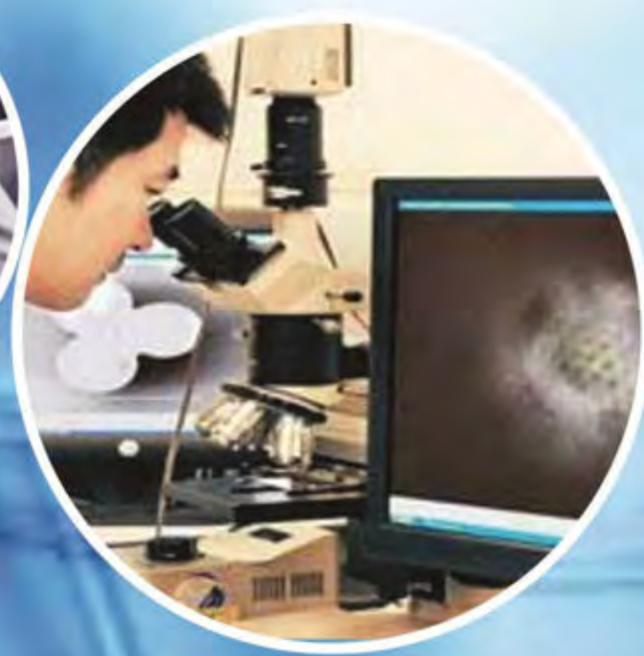
Buku Teks
Bahan Ajar Siswa

Paket Keahlian: Kimia Analis

Mikrobiologi







KELAS
X
SEMESTER 2

Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan
Republik Indonesia

KATA PENGANTAR

Kurikulum 2013 dirancang untuk memperkuat kompetensi siswa dari sisi sikap, pengetahuan dan keterampilan secara utuh. Keutuhan tersebut menjadi dasar dalam perumusan kompetensi dasar tiap mata pelajaran mencakup kompetensi dasar kelompok sikap, kompetensi dasar kelompok pengetahuan, dan kompetensi dasar kelompok keterampilan. Semua mata pelajaran dirancang mengikuti rumusan tersebut.

Pembelajaran kelas X dan XI jenjang Pendidikan Menengah Kejuruhan yang disajikan dalam buku ini juga tunduk pada ketentuan tersebut. Buku siswa ini diberisi materi pembelajaran yang membekali peserta didik dengan pengetahuan, keterampilan dalam menyajikan pengetahuan yang dikuasai secara kongkrit dan abstrak, dan sikap sebagai makhluk yang mensyukuri anugerah alam semesta yang dikaruniakan kepadanya melalui pemanfaatan yang bertanggung jawab.

Buku ini menjabarkan usaha minimal yang harus dilakukan siswa untuk mencapai kompetensi yang diharuskan. Sesuai dengan pendekatan yang digunakan dalam kurikulum 2013, siswa diberanikan untuk mencari dari sumber belajar lain yang tersedia dan terbentang luas di sekitarnya. Peran guru sangat penting untuk meningkatkan dan menyesuaikan daya serp siswa dengan ketersediaan kegiatan buku ini. Guru dapat memperkayanya dengan kreasi dalam bentuk kegiatan-kegiatan lain yang sesuai dan relevan yang bersumber dari lingkungan sosial dan alam.

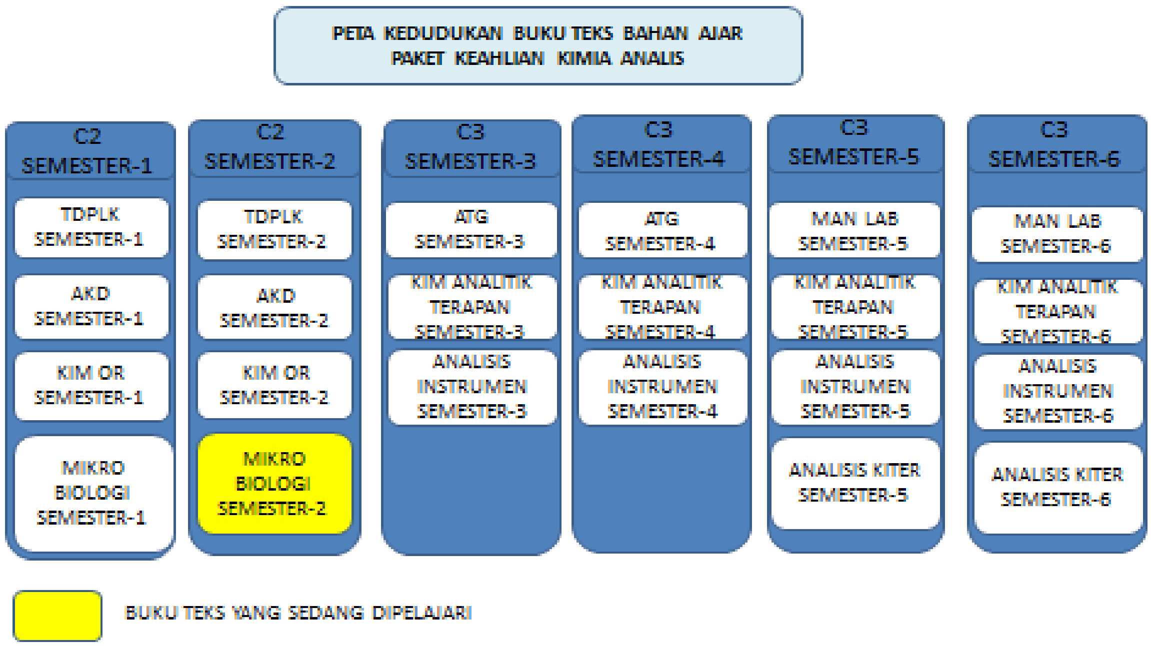
Buku ini sangat terbuka dan terus dilakukan perbaikan dan penyempurnaan. Untuk itu, kami mengundang para pembaca memberikan kritik, saran, dan masukan untuk perbaikan dan penyempurnaan. Atas kontribusi tersebut, kami ucapkan terima kasih. Mudah-mudahan kita dapat memberikan yang terbaik bagi kemajuan dunia pendidikan dalam rangka mempersiapkan generasi seratus tahun Indonesia Merdeka (2045).

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR TABEL

PETA KEDUDUKAN BAHAN AJAR



Keterangan :

TDPLK : Teknik Dasar Pekerjaan Laboratorium Kimia

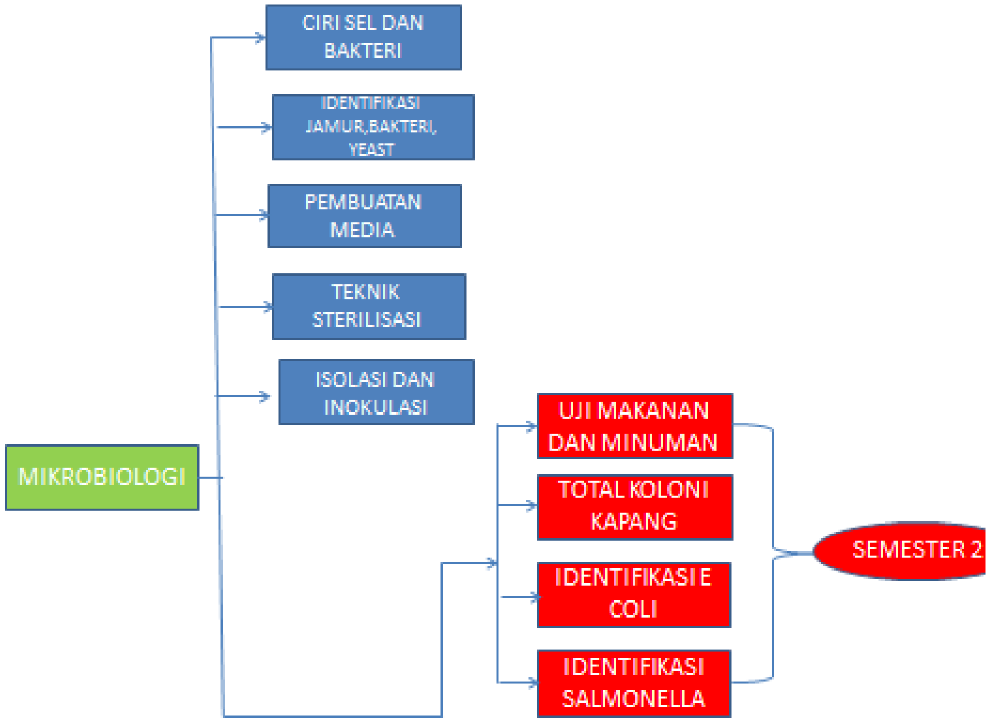
KIM OR : Kimia Organik

AKD : Analisis Kimia Dasar

ATG : Analisis Titrimetri dan Gravimetri

MAN LAB :Manajemen Laboratorium

Peta Kompetensi yang ada didalam buku teks bahan ajar siswa semester 2, apabila dilihat dari mata pelajaran Mikrobiologi pada Program Studi Kimia Analis adalah seperti pada gambar berikut:



Keterangan :

Mata Pelajaran Mikrobiologi mencakup sepuluh kompetensi dasar, yaitu, Ciri-ciri KoloniSel dan Bakteri, Identifikasi Jamur, Bakteri, dan *Yeast*, Pembuatan Media, Teknik Sterilisasi dan Uji Sterilitas, Teknik Isolasi dan Inokulasi, Kondisi Optimum Pertumbuhan Mikroba, Pemeriksaan Kualitas Air dan Makanan dengan Metode *TPC*, Perhitungan Koloni Kapang, Identifikasi bakteri *E.coli*, dan Pengujian *Salmonella* pada Makanan

Pembelajaran yang paling awal diberikan adalah Ciri-ciri Koloni Sel dan Bakteri, Identifikasi Jamur, Bakteri dan Yeast, Pembuatan Media, Teknik Sterilisasi dan Uji Sterilitas, Teknik Isolasi dan Inokulasi, serta Kondisi Optimum Pertumbuhan Mikroba sebagai prasyarat dalam mempelajari Pembelajaran Pemeriksaan Kualitas Air dan Makanan dengan Metode *TPC*, Perhitungan Koloni Kapang, Identifikasi bakteri E.*coli*, dan Pengujian *Salmonella* pada Makanan

GLOSARIUM

Agen adalah perantara

Aerobik adalah membutuhkan oksigen selama masa hidupnya

Aflatoksin adalah metabolic sekunder dari berbagai fungi/kapang

Alga adalah ganggang

Aman untuk dikonsumsi adalah pangan tersebut tidak mengandung bahan-bahan yang dapat membahayakan kesehatan atau keselamatan manusia misalnya bahan yang dapat menimbulkan penyakit atau keracunan.

Anaerobik adalah tidak membutuhkan oksigen selama masa hidupnya

Analisis adalah prosedur mengukur, menentukan, atau membandingkan suatu sifat atau parameter dalam bahan atau produk dengan menggunakan metode dan peralatan yang biasanya dilakukandi laboratorium

Asam amino adalah penyusun protein dan peptide

Bakteri adalah makhluk hidup sederhana bersel tunggal

Bahan Pangan adalah bahan baku dan bahan tambahan yang akan digunakan sebagai bahan masukan dalam pengolahan suatu produk pangan

Coliform adalah kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi dan kondisi sanitasi yang tidak baik

E.coli adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek

Eukarion adalah sel yang memiliki inti yang jelas sel

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis (senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi)

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen).

Flagela adalah alat gerak pada bakteri (bersel satu) yang berbentuk cambuk

Genus adalah salah satu bentuk pengelompokan dalam klasifikasi makhluk hidup yang lebih rendah dari familia

Glukosa adalah salah satu karbohidrat terpenting yang digunakan sebagai sumber tenaga bagi hewan dan tumbuhan

Heterotof adalah organisme yang tidak mampu membuat makanannya sendiri

Hifa adalah elemen terkecil dari jamur, yaitu berupa benang-benang filamen yang terdiri dari sel-sel

Higiene adalah segala usaha untuk memelihara dan mempertinggi derajat kesehatan (d) Sanitasi adalah upaya pencegahan terhadap kemungkinan bertumbuh dan berkembang biaknya jasad renik pembusuk dan patogen dalam peralatan dan bangunan yang dapat merusak dan membahayakan

Inkubasi adalah Pengkondisian mikroba untuk tumbuh dan berkembang biak sesuai dengan suhu dan waktu yang dibutuhkan

Inokulasi adalah suatu pekerjaan memindahkan mikroorganisme dari medium lama ke medium yang baru

Isolasi bakteriadalah suatu cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya sehingga diperoleh kultur murni bakteri

Keamanan Pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan fisik yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia.

Khamir adalah mikroorganisme eukariot yang diklasifikasikan dalam kingdom Fungi

Kitin adalah komponen utama dari dinding sel jamur, exoskeleton (kerangka luar) dari arthropoda

Kolumela adalah bagian dari jamur yang berbentuk kolom-kolom

Konidiofora adalah spora aseksual pada jamur

Koloni adalah Pertumbuhan mikroorganisme pada medium biakan padat yang secara makroskopis kasatmata (dapat dilihat dengan mata langsung)

Kontaminasi adalah Masuknya organisme yang tidak dikehendaki kedalam beberapa bahan atau benda

Layak untuk dikonsumsi adalah pangan yang diproduksi dalam kondisi normal dan tidak mengalami kerusakan, berbau busuk, menjijikkan, kotor, tercemar atau terurai, sehingga dapat diterima oleh masyarakat pada umumnya.

Media adalah Nutrisi dalam bentuk padat atau cair untuk tempat pertumbuhan mikroba adalah kelompok organisme yang berukuran kecil dan hanya dapat dilihat di mikroskop

Media agar adalah Media padat yang digunakan untuk pertumbuhan mikroba

Media selektif adalah Media yang mengandung bahan-bahan selektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri selain bakteri yang dianalisa

Miselium adalah bagian Jamur Multiseluler yang dibentuk oleh kumpulan beberapa Hifa

Parasit adalah organisme yang mengganggu organisme lain yang ditumpanginya

Pangan adalahsegala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun yang tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman.

Penyimpanan pangan adalah proses, cara dan / atau kegiatan menyimpan pangan baik di sarana produksi maupun distribusi.

Peredaran pangan adalahsetiap kegiatan atau serangkaian kegiatan dalam rangka penyaluran pangan kepada masyarakat, baik untuk diperdagangkan maupun tidak.

Ragi adalah agensia pengembangyang mengandung karbonat atau bikarbonat dan umumnya bersifat asam

Reagen adalah pereaksi kimia

Rhizoid adalah hifa vegetatif mirip akar dari tumbuhan yang dapat bercabang-cabang seperti jari-jari pada tangan

Sanitasi adalah Mengurangi jumlah mikroba dalam suatu bahan atau pada alat untuk meningkatkan keamanannya

Saprofit adalah Suatu organisme yang hidup pada bahan organik mati

Simbiosis adalah interaksi antara dua organisme yang saling menumpang satu sama lain

Serotipe adalah bentuk suatu zat yang dibedakan dengan beberapa jenis tes laboratorium

Substrat adalah molekul organik yang telah berada dalam kondisi siap/segera bereaksi

Sterilisasi adalah proses pemusnahan semua mikroorganisme termasuk spora bakteri yang sangat resisten

Strain adalah Kultur murni dari suatu mikroorganisme yang terdiri dari isolate sel yang sama

Stolon adalah batang yang tumbuh mendatar di permukaan tanah

Sporangifora adalah cabang miselium yang mengandung sporangium

Organoleptik adalah sifat bahan makanan yang dinilai dengan menggunakan indra

Yeast adalah jamur

I. PENDAHULUAN

A. Deskripsi

Mata Pelajaran Mikrobiologi merupakan sebuah cabang ilmu dari biologi yang mempelajari tentang mikroorganisme.Objek kajian mikrobiologi adalah semua makhluk hidup yang hanya bisa dilihat dengan mikroskop.

Mata pelajaran Mikrobiologi bertujuan untuk:

- Menambah keimanan peserta didik dengan menyadari hubungan keteraturan, keindahan alam, dan kompleksitas alam dalam jagad raya terhadap kebesaran Tuhan yang menciptakannya;
- Menyadari kebesaran Tuhan yang menciptakan bumi dan seisinya yang memungkinkan bagi makhluk hidup untuk tumbuh dan berkembang;
- Menunjukkan perilaku ilmiah (memiliki rasa ingin tahu; objektif; jujur; teliti; cermat; tekun; ulet; hati-hati; bertanggung jawab; terbuka; kritis; kreatif; inovatif dan peduli lingkungan) dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi sikap ilmiah dalam melakukan percobaan dan berdiskusi;
- Menghargai kerja individu dan kelompok dalam aktivitas sehari-hari sebagai wujud implementasi melaksanakan percobaan dan melaporkan hasil percobaan;
- Memupuk sikap ilmiah yaitu jujur, obyektif, terbuka, ulet, kritis dan dapat bekerjasama dengan orang lain;
- Mengembangkan pengalaman menggunakan metode ilmiah untuk merumuskan masalah, mengajukan dan menguji hipotesis melalui percobaan, merancang dan merakit instrumen percobaan, mengumpulkan, mengolah, dan menafsirkan data, serta mengkomunikasikan hasil percobaan secara lisan dan tertulis;
- Mengembangkan kemampuan menalar dalam berpikir analisis induktif dan deduktif dengan menggunakan konsep dan prinsip keamanan pangan untuk

menjelaskan berbagai peristiwa alam dan menyelesaian masalah baik secara kualitatif maupun kuantitatif;

- Menguasai konsep dan prinsip keamanan pangan serta mempunyai keterampilan mengembangkan pengetahuan, dan sikap percaya diri sebagai bekal kesempatan untuk bekerja serta dan mengembangkan ilmu pengetahuan dan teknologi.

B. Ruang Lingkup Materi

- Pemeriksaan makanan dan minuman dengan metode *TPC*
- Pemeriksaan dan perhitungan total koloni dan kapang
- Identifikasi bakteri *E.coli* dengan metode IMViC
- Identifikasi bakteri *Salmonella* pada makanan

C. Prasyarat

Untuk mempelajari mikrobiologi pada buku teks bahan ajar siswa semester 2 diharapkan siswa telah memahami semua pembelajaran pada buku mikrobiologi semester 1 yang mencakup Ciri-ciri Koloni, Sel dan Bakteri, Identifikasi Jamur, Bakteri, dan *Yeast*, Pembuatan Media, Teknik Sterilisasi dan Uji Sterilitas, Teknik Isolasi dan Inokulasi, serta Kondisi Optimum Pertumbuhan Mikroba

D. Petunjuk Penggunaan Buku Teks Bahan Ajar Siswa

1. Buku teks bahan ajar siswa mikrobiologi terdiri dari 2 buku, yaitu mikrobiologi semester 1 dan mikrobiologi semester 2
2. Buku teks bahan ajar semester 2 terdiri dari kompetensi dasar pemeriksaan makanan dan kualitas air dengan metode *TPC*, Perhitungan Total koloni kapang, Identifikasi *E coli* dengan metode IMViC dan *TPC*serta Identifikasi *Salmonella* pada bahan pangan
3. Sebelum memulai belajar, isilah ceklist kemampuan awal

4. Mulailah belajar dengan kompetensi dasar yang pertama dan seterusnya
5. Apabila telah selesai mempelajari uraian atau lembar informasi, lanjutkan dengan lembar kerja/tugas
6. Apabila telah selesai mempelajari lembar informasi dan dan lembar kerja ,pada setiap kompetentensi dasar (KD), cek kemampuan anda dengan mengerjakan lembar penilaian dalam bentuk latihan, dan isilah refleksi
7. Setelah selesai belajar semua kompetensi dasar dalam satu semester kerjakan lembar penilaian akhir semester.
8. Apabila anda merasa belum berhasil dan atau hasil penilaian akhir semester masih kurang dari 70, pelajari kembali materi yang merasa masih kurang

Didalam proses belajar mengajar siswa harus melewati tahap-tahap pembelajar yaitu :

1. Kegiatan mengamati, yaitu siswa dapat mengamati segala sesuatu yang berhubungan mikrobiologi, baik yang ada di buku ini, sekolah, industri atau sumber belajar lainnya.
2. Kegiatan menanya, yaitu siswa diharapkan melakukan kegiatan bertanya mengenai kenyataan yang ada dibuku maupun dilapangan, dengan cara bertanya langsung terhadap guru, teman sendiri, wawancara pihak industri maupun dengan cara diskusi kelompok.
3. Kegiatan mengumpulkan data atau informasi, yaitu siswa diharapkan dapat mengumpulkan data atau bahan tentang mikrobiologi dengan cara ekperimen atau praktek, membaca, melalui internet, wawancara dengan pihak yang kompeten.
4. Kegiatan mengasosiasi, yaitu siswa diharapkan dapat menghubungkan dari hasil data/informasi tentang hasil pengamatan, membaca, ekperimen/praktek menjadi satu kesimpulan hasil belajar
5. Kegiatan mengkomunikasikan, yaitu siswa dapat mengkomunikasikan hasil data/informasi kepada orang lain, dapat melalui lisan atau tulisan.

E. Tujuan Akhir Pembelajaran

1. Setelah mempelajari buku teks bahan ajar siswa ini peserta didik mampu :
2. Memahami konsep dan prinsip cara melakukan kualitas air dan makanan dengan metode TPC
3. Melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan dengan metoda TPC
4. Menerapkan konsep dan prinsip cara menentukan jumlah koloni kapang
5. Melaksanakan pengujian total kapang dalam suatu sampel
6. Menerapkan konsep dan prinsip cara teknik identifikasi bakteri E coli menggunakan metode IMVIC
7. Melakukan identifikasi bakteri E coli menggunakan metode IMVIC
8. Menerapkan konsep dan prinsip cara pelaporan hasil pemeriksaan Salmonella bahan pangan
9. Melakukan pemeriksaan Salmonella pada bahan pangan

F. Kompetensi Inti dan Kompetensi Dasar

Kompetensi Inti dan Kompetensi dasar pada mata pelajaran Mikrobiologi pada semester dua sebagai berikut:

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
1. Menghayati dan mengamalkan ajaran agama yang dianutnya	1.1 Meyakini anugerah Tuhan melalui pembelajaran mikrobiologi sebagai amanat untuk kemaslahatan umat manusia.
2. Menghayati perilaku (jujur, disiplin, tanggungjawab, peduli, santun, ramah lingkungan, gotong royong, kerjasama, cinta damai, responsif dan pro-aktif) dan menunjukan sikap sebagai bagian dari solusi atas berbagai permasalahan bangsa dalam berinteraksi secara efektif dengan lingkungan sosial dan	2.1 Menghayati sikap cermat, teliti dan tanggungjawab sebagai hasil dari pembelajaran 2.2 Menghayati pentingnya kerjasama sebagai hasil pembelajaran praktik 2.3 Menghayati pentingnya kepedulian terhadap kebersihan lingkungan laboratorium mikrobiologi sebagai hasil dari

KOMPETENSI INTI	KOMPETENSI DASAR
alam serta dalam menempatkan diri sebagai cerminan bangsa dalam pergaulan dunia.	pembelajaran praktik
3. Memahami, menganalisis serta menerapkan pengetahuan faktual, konseptual, prosedural dalam ilmu pengetahuan, teknologi, seni, budaya, dan humaniora dengan wawasan kemanusiaan, kebangsaan, kenegaraan, dan peradaban terkait penyebab fenomena dan kejadian dalam bidang kerja yang spesifik untuk memecahkan masalah	3.1 Menerapkan konsep dan prinsip cara melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan metoda *TPC* 3.2 Menerapkan konsep dan prinsip cara menentuan jumlah koloni kapang 3.3 Menerapkan konsep dan prinsip cara teknik identifikasi bakteri *E. Coli*menggunakan metode IMViC (*red, Voges-Prokauer, Citrate Indole, Methil*) 3.4 Menerapkan konsep dan prinsip cara pelaporan hasil pemeriksaan *Salmonella* bahan pangan
4. Mengolah, menalar, dan menyaji dalam ranah konkret dan ranah abstrak terkait dengan pengembangan dari yang dipelajarinya di sekolah secara mandiri, dan mampu melaksanakan tugas spesifik di bawah pengawasan langsung.	4.1 Melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan dengan metoda *TPC* 4.2 Melaksanakan pengujian total kapang dalam sampel 4.3 Melakukan identifikasi bakteri *E. Coli*menggunakan metode IMVIC (Indole, Methil red, Voges-Prokauer Citrate) 4.4 Melakukan pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan

G. Cek Kemampuan Awal

Jawablah pertanyaan berikut dengan memberi tanda “√” pada kolom “sudah” atau “belum”.

No	Pertanyaan	Sudah	Belum
1.	Apakah anda sudah memahami konsep dan prinsip pemeriksaan kualitas air dan makanan dengan metode *TPC*		
2.	Apakah anda sudah bisa melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan secara mikrobiologis?		

3.	Apakah anda sudah memahami tentang teknik menghitung koloni mikroba dengan metode *TPC*		
4.	Apakah anda sudah mengetahui cara kerja dan cara perhitungan mikroba dengan teknik *TPC*		
5.	Apakah anda sudah dapat melakukan pemeriksaan kualitas air dan makanan dengan teknik *TPC*		
6.	Apakah anda dapat menyimpulkan dan menyajikan hasil dari pemeriksaan kualitas air dan makanan dengan metode *TPC*		
7.	Apakah anda mengetahui konsep dan prinsip cara perhitungan koloni kapang		
8.	Apakah anda sudah dapat melakukan pengujian untuk menghitung jumlah koloni kapang dalam sampel		
9.	Apakah anda sudah dapat menyimpulkan dan menyajikan hasil pengujian perhitungan koloni kapang		
10.	Apakah anda dapat mengetahui karakteristik bakteri coliform		
11.	Apakah anda sudah mengetahui cara perhitungan mikroba dengan teknik MPN		
12.	Apakah anda sudah mengetahui tentang berbagai media yang dapat digunakan untuk isolasi *E coli*		
13.	Apakah anda sudah mengetahui konsep dan prinsip cara identifikasi bakteri *E coli*		
14.	Apakah anda sudah memahami cara identifikasi bakteri *E. coli* dengan metode IMViC		
15.	Apakah anda sudah dapat melakukan identifikasi bakteri dengan metode IMViC		
16.	Apakah anda sudah dapat menyajikan hasil identifikasi bakteri *E coli* dengan metode IMViC		
17.	Apakah anda sudah mengetahui konsep dan prinsip pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan		
18.	Apakah anda sudah mengetahui media apa saja yang digunakan dalam pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan		
19.	Apakah anda sudah mengetahui prosedur kerja cara pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan		
20.	Apakah anda sudah dapat melakukan pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan		
21.	Apakah anda sudah dapat melaporkan hasil pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan		

Keterangan :

1. Apabila jawaban “sudah” minimal 18 item (lebih dari 70%), maka anda sudah bisa langsung mengerjakan evaluasi.
2. Apabila jawaban “sudah” kurang dari 18 (kurang dari 70%), maka anda harus mempelajari buku teks terlebih dahulu

II. PEMBELAJARAN

Kegiatan Pembelajaran 1. Pemeriksaan Kualitas Air dan Makanan Dengan Metode *TPC* (*Total Plate Count*)

A. Deskripsi

Pemeriksaan kualitas air dan makanan dilakukan untuk mengetahui layak atau tidaknya makanan atau minuman tersebut kita konsumsi. Hal tersebut bergantung pada jumlah dan jenis mikroorganisme yang ada dalam makanan atau minuman tersebut.Pemeriksaan ini dapatdilakukan dengan metode TPC (*Total Plate Count*), yaitu dengan menghitung jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu sampel atau sediaan. Metode TPC juga sering disebut dengan metode ALT (Angka Lempeng Total)

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah melakukan kegiatan belajar ini, diharapkan siswa dapat :

a) Mengetahui prinsip dan tujuan penentuan jumlah mikroba dengan TPC
b) Mengetahui standar mutu produk berdasarkan jumlah mikroba yang ada dalam produk tersebut
c) Mengetahui dan melakukan cara penentuan jumlah mikroba dengan metode TPC dimulai dari preparasi sampel, teknik pengenceran sampel, sampai dengan aturan perhitungan jumlah koloni dan cara melaporkan data jumlah bakteri

2. Uraian Materi

a. Kualitas Air dan Makanan

Mikroorganisme atau mikroba adalah organisme hidup yang berukuran sangat kecil dan hanya dapat diamati dengan menggunakan mikroskop. Mikroorganisme dapat berinteraksi dengan organisme lain dengan cara yang menguntungkan atau merugikan. Interaksi mikroorganisme dengan bahan pangan dapat menyebabkan perubahan pada bahan pangan tersebut.Perubahan pada bahan pangan tersebut dapat berupa perubahan menguntungkan atau merugikan. Perubahan yang menguntungkan dapat kita lihat pada proses pembuatan tempe oleh jamur, pembuatan yoghurt oleh *Lactobacillus bulgaricus*. Sedangkan perubahan yang merugikan dapat berupa kerusakan atau pembusukan makanan.

Kerusakan bahan pangan dapat berlangsung cepat atau lambat tergantung dari jenis bahan pangan atau makanan yang bersangkutan dan kondisi lingkungan dimana bahan pangan tersebut diletakkan (Wijayanti, 2011).Salah satu indikator kerusakan produk pangan atau makanan adalah bila jumlah mikroorganisme tumbuh melebihi batas yang telah ditetapkan.Untuk mengetahui sejauh mana kerusakan bahan pangan tersebut dan untuk mengetahui aman atau tidaknya makanan tersebut dikonsumsi, maka harus terlebih dahulu dilakukan pemeriksaan mikrobiologi.Pengujian mikrobiologi diantaranya meliputi uji kuantitatif untuk menentukan mutu dan daya tahan suatu makanan, uji kualitatif bakteri patogen untuk menentukan tingkat keamanannya, dan uji bakteri indikator untuk mengetahui tingkat sanitasi makanan tersebut (Fardiaz, 1993).

Pengujian mikrobiologi pada sampel makanan akan selalu mengacu kepada persyaratan makanan yang sudah ditetapkan. Parameter uji mikrobiologi pada air dan makanan yang dipersyaratkan sesuai Standar

Nasional Indonesia diantaranya uji TPC (*Total Plate Count*) atau ALT (Angka Lempeng Total), uji MPN Coliform dan lain-lain.Uji *Total Plate Count* (TPC) merupakan metode kuantitatif yang umumnya digunakan untuk menghitung adanya bakteri secara langsung.

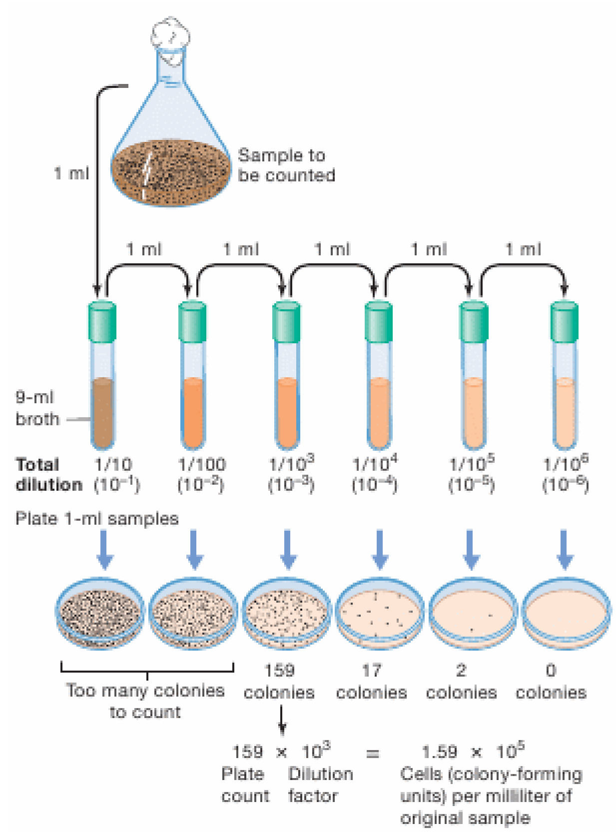
Dengan bekerja secara kelompok, carilah informasi persyaratan standar TPC pada beberapa produk makanan dan informasi mengenai prosedur analisis TPC.

b. Metode Total Plate Count (TPC)

Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count* (*TPC*) adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme.Dengan metode ini, kita dapat menghitung sel yang masih hidup, menentukan jenis mikroba yang tumbuh dalam media tersebut serta dapat mengisolasi dan mengidentifikasi jenis koloni mikroba tersebut.

Pada metode ini, teknik pengenceran merupakan hal yang harus dikuasai.Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis.Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat.Pengenceran memudahkan dalam perhitungan

koloni (Fardiaz, 1993). Menurut Waluyo (2005), tahapan pengenceran dimulai dari membuat larutan sampel sebanyak 10 ml (campuran 1 ml/1gr sampel dengan 9 ml larutan fisiologis). Dari larutan tersebut diambil sebanyak 1 ml dan masukkan kedalam 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10^{-2}. Dari pengenceran 10^{-2} diambil lagi 1 ml dan dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 ml larutan fisiologis sehingga didapatkan pengenceran 10^{-3}, begitu seterusnya sampai mencapai pengenceran yang kita harapkan.Secara keseluruhan, tahap pengenceran dijelaskan dalam gambar berikut ini.



Gambar 1. Teknik pengenceran Sampel

Sumber. Pearson, 2006

Setelah dilakukan pengenceran, kemudian dilakukan penanaman pada media lempeng agar.Setelah diinkubasi, jumlah koloni masing-masing

cawan diamati dan dihitung.Koloni merupakan sekumpulan mikroorganisme yang memiliki kesamaan sifat seperti bentuk, susunan, permukaan, dan sebagainya. Sifat-sifat yang perlu diperhatikan pada koloni yang tumbuh di permukaan medium adalah sebagai berikut:

- Besar kecilnya koloni. Ada koloni yang hanya berupa satu titik, namun ada pula yang melebar sampai menutup permukaan medium.
- Bentuk. Ada koloni yang bulat dan memanjang. Ada yang tepinya rata dan tidak rata.
- Kenaikan permukaan. Ada koloni yang rata dengan permukaan medium, ada pula yang timbul diatas permukaan medium.
- Halus kasarnya pemukaan. Ada koloni yang permukaannya halus, ada yang permukaannya kasar dan tidak rata.
- Wajah permukaan. Ada koloni yang permukaannya mengkilat da nada yang permukaannya suram.
- Warna. Kebanyakan koloni bakteri berwarna keputihan atau kekuningan.
- Kepekatan. Ada koloni yang lunak seperti lender, ada yang keras dan kering.

Selanjutnya perhitungan dilakukan terhadap cawan petri dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300.Perhitungan Total Plate Countdinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengencer.

Keuntungan dari metode TPC adalah dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam contoh.Adapun kelemahan dari metode ini adalah:

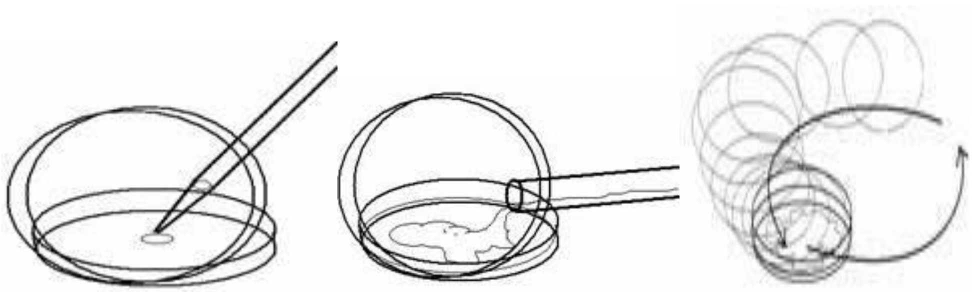
- Memungkinkan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel.

- Memungkinkan ini akan memperkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya. Kemungkinan adanya jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.
- Memungkinkan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media,sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
- Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikrobanya antara 30 – 300 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 30 koloni akan menghasilkan penghitungan yang kurang teliti secara statistik, namun bila lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni.
- Penghitungan populasi mikroba dapat dilakukan setelah masa inkubasi yang umumnya membutuhkan waktu 24 jam atau lebih.

Uji Total Plate Countmenggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Sebelum diuji di media padat, sampel terlebih dahulu harus diencerkan. Pengenceran sampel dilakukan terhadap sediaan yang akan didentifikasi kemudian ditanam pada media lempeng agar. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada lempeng agar dihitung setelah inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai.Perhitungan dilakukan terhadap petri dengan jumlah koloni bakteri antara 30-300.Total Plate Countdinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengencer.

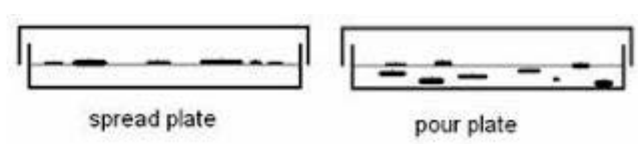
Teknik pengenceran sampel dilakukan pada metode cawantuang (pour plate). Pada metode tuang, sejumlah sampel dari hasil pengenceran sebanyak 1 ml dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian ditambahkan media yang telah disterilkan sebanyak 15-20 ml. Kemudian cawan petri digoyang agar media dan sampel tercampur rata dan biarkan memadat. Hal

ini akan menyebarkan sel-sel bakteri tidak hanya pada permukaan media yang kaya oksigen, tetapi ada pula yang tumbuh didalam media yang tidak begitu banyak mengandung oksigen. Secara keseluruhan tahap dalam metode cawan tuang (pour plate) ini dijelaskan pada gambar berikut.



Gambar 2. Proses inokulasi bakteri, penuangan media dan penghomogenan larutan

Sementara pada metode lainnya yaitu metode goresan, proses penanaman bakteri hanya dilakukan di permukaan bakteri saja.Teknik ini menguntungkan jika ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapi memerlukan keterampilan-keterampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Tetapi kelemahan metode ini adalah bakteri-bakteri anaerob tidak dapat tumbuh, karena goresan hanya dilakukan di permukaan media saja.



Gambar 3. Pertumbuhan bakteri pada metode *Spread plate* dan *Pour plate*

Pada gambar diatas dapat anda lihat bahwa pada metode goresan atau *spread plate*, bakteri hanya tumbuh pada permkaan media yang digores

saja, sementara pada metode cawan tuang atau *pour plate*, bakteri tumbuh tidak hanya di permukaan media saja tetapi diseluruh bagian media.

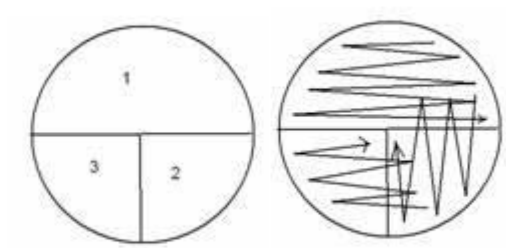
Dalam melakukan teknik goresan harus memperhatikan beberapa hal berikut ini, antara lain:

1. Gunakan jarum ose yang telah dingin untuk menggores permukaan lempengan media. Jarum ose yang masih panas akan mematikan mikroorganisme sehingga tidak terlihat adanya pertumbuhan mikroorganisme di bekas goresan.
2. Sewaktu menggores, jarum ose dibiarkan meluncur diatas permukaan lempengan. Media agar yang luka akan mengganggu pertumbuhan mikroorganisme, sehingga sulit diperoleh koloni yang terpisah.
3. Jarum ose harus dipijarkan kembali setelah menggores suatu daerah, hal ini dengan tujuan mematikan mikroorganisme yang melekat pada mata jarum ose dan mencegah kontaminasi pada penggoresan berikutnya.
4. Menggunakan tutup cawan petri untuk melindungi permukaan supaya terhindar dari kontaminasi.
5. Membalikkan lempengan media agar untuk mencegah air kondensasi jatuh diatas pemukaan media.

Ada beberapa teknik penggesekan, yaitu

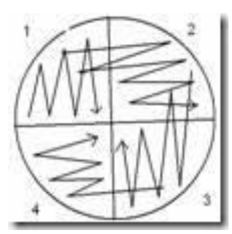
1. Goresan T
    - Lempengan dibagi menjadi 3 bagian dengan huruf T pada bagian luar cawan petri.

- Inokulasikan daerah I sebanyak mungkin dengan gerakan sinambung.
- Panaskan mata jarum ose dan biarkan dingin kembali.
- Gores ulang daerah I sebanyak 3-4 kali dan teruskan penggoresan pada daerah II
- Ulangi prosedur diatas untuk melakukan penggoresan untuk daerah III



Gambar 4. Goresan T kuadran 3

2. Goresan Kuadran, teknik ini sama dengan goresan T, hanya lempengan agar dibagi menjadi 4

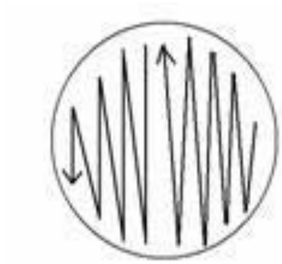


Gambar 5. Goresan T kuadran 4

3. Goresan Radian
   - Goresan dimulai dari bagian pinggir lempengan.
   - Pijarkan mata jarum ose dan dinginkan kembali
   - Putar lempengan agar 90^0 dan buat goresan terputus diatas goresan sebelumnya

4. Goresan Sinambung

- Ambil satu mata ose suspense dan goreskan setengah permukaan lempengan agar
- Jangan pijarkan ose, putar lempengan 180^0, gunakan sisi mata ose yang sama dan gores pada sisa permukaan lempengan agar.



Gambar 6. Goresan Sinambung

Dari berbagai informasi yang telah anda dapatkan, jika ada yang belum dimengerti, silahkan tanyakan pada

c. Perhitungan Koloni Bakteri

Untuk melaporkan analisis mikrobiologi digunakan suatu standar yang disebut "*Standard Plate Count*" yang menjelaskam cara menghitung koloni pada cawan serta cara memilih data yang ada untuk menghitung jumlah koloni dalam suatu contoh. Cara menghitung koloni pada cawan harus memperhatikan hal-hal berikut ini :

- Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 25 sampai 250.

- Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni.
- Suatu deretan atau rantai koloni yang terlihat seperti suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Sedangkan data yang dilaporkan sebagai *Standard Plate Count* (SPC) harus mengikuti peraturan sebagai berikut (SNI 01-2897-1992):

1) Dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25-250 koloni.

Contoh:

Pengenceran	**Cawan I**	**Cawan II**	**Keterangan**
10^{-2}	150	350	Yang memenuhi syarat perhitungan adalah cawan 1
10^{-3}	20	35	Yang memenuhi syarat perhitungan adalah cawan II

Jumlah koloni rata-rata →Jumlahkedua cawan yang memenuhi syarat dikalikan dengan faktor pengencerannya.

Perhitungan *Total Plate Count*adalah :

$$\frac{(150 \times 1/10^{-2}) + (25 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(150 \times 10^{2}) + (25 \times 10^{3})}{2}$$

$$= \frac{15.000 + 25.000}{2} = 20.000$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah 20.000 cfu/ml

2) Bila salah satu dari cawan petri menunjukkan jumlah koloni ≤25 atau ≥250 maka hitunglah jumlah rata-rata koloni, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya .

Contoh :

Pengenceran	**Cawan I**	**Cawan II**	**Jumlah Koloni Rata-Rata**
10^{-2}	200	300	$=\frac{(200 + 300)}{2} \times 10^{-2}$ $= 250 \times 10^{-2}$
10^{-3}	15	25	$= \frac{(15 + 25)}{2} \times 10^{-3}$ $= 20 \times 10^{-3}$

Perhitungan*Total Plate Count*adalah :

$$= \frac{(250 \times 1/10^{-2}) + (20 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(250 \times 10^{2}) + (20 \times 10^{3})}{2}$$

$$= \frac{25.000 + 20.000}{2}$$

$$= 22.500$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah 22.500 cfu/ml

3) Bila cawan-cawan dari dua tingkat pengenceran yang berurutan menunjukkan jumlah koloni antara 25-250 → hitunglah jumlah koloni dari masing-masing tingkat pengenceran, dikalikan dengan faktor pengencerannya dan rata-rata jumlah koloni dari kedua pengenceran tersebut.

Contoh:

Pengenceran	Cawan I	Cawan II	Jumlah Koloni Rata-rata
10^{-2}	215	225	$= \frac{(215 + 225)}{2} \times 10^{-2}$ $= 220 \times 10^{-2}$
10^{-3}	55	45	$= \frac{(55 + 45)}{2} \times 10^{-3}$ $= 50 \times 10^{-3}$

Perhitungan*Total Plate Count*adalah :

$$= \frac{(220 \times 1/10^{-2}) + (50 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(220 \times 10^{2}) + (50 \times 10^{3})}{2}$$

$$= \frac{22.000 + 50.000}{2}$$

$$= 36.000$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah 36.000 cfu/ml

4) Bila hasil perhitungan diatas, pada tingkat pengenceran yang lebih tinggi diperoleh jumlah koloni rata-rata ≥2kali jumlah koloni rata-rata pengenceran dibawahnya, maka dipilih tingkat pengenceran yang lebih rendah.

   Contoh:

Pengenceran	**Jumlah Koloni Rata-rata**
10^{-2}	140
10-3	32

   Maka *Total Plate Count*adalah 140x10^{2}cfu/ml

5) Bila tidak satupun koloni tumbuh dalam cawan, maka *Total Plate Count*dinyatakan sebagai <1 dikalikan faktor pengenceran terendah.

   Contoh:

Pengenceran	**Jumlah Koloni**
10^{-2}	0
10^{-3}	0

   Maka *Total Plate Count*adalah<1x 10^{2}

6) Jika seluruh cawan menunjukkan jumlah koloni ≥250, dipilih cawan dari tingkat pengenceran tertinggi kemudian dibagi menjadi beberapa bagian atau sector (2,4, atau 8) dan dihitung jumlah koloni dari satu sektor

   Contoh:

Pengenceran	**Cawan I (1 Sektor)**	**Cawan II (1 Sektor)**
10^{-2}	100	150
10^{-3}	175	200

   Selanjutnya ,*Total Plate Count*didapatkan dari hasil jumlah koloni dikalikan dengan jumlah sektor, kemudian dihitung rata-rata dari kedua cawan dan dikalikan dengan faktor pengenceran .

Contoh:

Jumlah sektor : 4

Pengenceran	Cawan I	Cawan II	Jumlah Koloni Rata-rata
10^{-2}	Jumlah koloni → 100 x 4= 400	Jumlah koloni → 150 x 4 = 600	500 x 10^2
10^{-3}	Jumlah koloni → 175 x 4 = 700	Jumlah koloni → 200 x 4 = 800	750 x 10^3

Perhitungan*Total Plate Count*adalah :

$$= \frac{(500 \times 1/10^{-2}) + (750 \times 1/10^{-3})}{2} = \frac{(500 \times 10^{2}) + (750 \times 10^{3})}{2}$$

$$= \frac{50.000 + 750.000}{2}$$

$$= 400.000 = 40 \times 10^4$$

Maka jumlah koloni dalam 1 ml adalah 40 x 10^4 cfu/ml

d. Cara Menghitung dan Membulatkan Angka

Dalam melaporkan jumlah koloni atau jumlah koloni perkiraan hanya 2 angka penting yang digunakan, yaitu angka yang pertama dan kedua. Pembulatan angka keatas dengan cara menaikkan angka kedua menjadi angka yang lebih tinggi jika angka ketika adalah 6,7,8,atau 9. Gunakanlah angka 0 pada masing-masing angka pada digit berikutnya. Pembulatan angka kebawah bila angka ketiga adalah 1,2,3, atau 4. Bila angka ketiga adalah angka 5, maka bulatkanlah keatas jika angka kedua merupakan bilangan ganjil atau bulatkan kebawah bila angka kedua merupakan bilangan genap.

.

3. Refleksi

Petunjuk :

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersebut!
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

Lembar kerja 1.

1. **Tugas**

   Teknik Dilusi (Pengenceran)

   Alat dan Bahan:

   a. Mikro pipet
   b. Pembakar bunsen
   c. Tabung reaksi dan rak
   d. Kultur mikroorganismAquades/larutan buffer pepto

4. **Tugas**

   a. UJI KUALITAS AIR DENGAN METODA TPC (*Total Plate Count*)

      1. Tujuan

         Setelah menyelesaikan tugas ini peserta didik mampu melakukan praktek uji kualitas air dan makanan dengan metode *TPC*secara terampil, cermat dan teliti.

      2. Alat dan Bahan

         Alat :

         - *Stomacher*
         - *Erlenmeyer*
         - Tabung reaksi
         - Cawan petri
         - Pipet ukur
         - Inkubator

         Bahan

         - *Nutrient Agar* (NA)
         - *Triphenyl Tetrazolium Chloride* (TTC) *0,5%*
         - akuades

3. Cara Kerja

- **Pembuatan Media**
  (a) Timbanglah nutrient agar (NA) sebanyak 2,4 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer.
  (b) Tambahkan 100 mL akuades.
  (c) Panaskan dan aduk hingga mendidih, diamkan beberapa saat.
  (d) Tuang ke dalam 6 buah cawan petri dan bungkus cawan petri dengan kertas
  (e) Masukkan cawan petri kedalam autoklaf untuk disterilisasi selama 2 jam pada suhu 121^0C dan tekanan 1 atm

- **Uji Kualitas Air dengan Metode *Total Plate Count* (*TPC*)**
  (a) Siapkan 1 labu erlenmeyer berisi 90 ml aquades dan 5 tabung reaksi berisi aquades 9 ml. Berilah kode A, B, C, D, E, dan F. Kemudian siapkan medium yang telah disterilkan dan berilah kode A, B, C, D, E, dan F.
  (b) Secara aseptis masukkan 10 ml sampel air kedalam labu Erlenmeyer berisi 90 ml aquades kemudian aduk hingga homogen. Ambillah 1 ml larutan dari Erlenmeyer dan masukkan kedalam tabung reaksi A. Lalu kocoklah tabung tersebut secara perlahan hingga larutan menjadi homogen. Kemudian ambillah 1 ml larutan dari tabung reaksi A dan masukkan kedalam tabung reaksi B, kocok perlahan hingga menjadi homogeny. Lakukan pengenceran bertahap tersebut sampai dengan tabung F sehingga didapat larutan dengan tingkat pengenceran 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{3}, 10^{-4}, 10^{-5}, dan 10^{-6}.
  (c) Secara aseptis, ambillah 0,1 ml larutan dari masing-masing tabung reaksi dan masukkan kedalam cawan petri yang telah berisi medium steril dengan kode yang sesuai. Putar atau goyangkan cawan petri tersebut tercampur rata.

(d) Inkubasi biakan tersebut pada suhu 37^0C. Setelah 1x 24 jam atau 2 x 24 jam, amati dan hitunglah jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada cawan petri dengan rumus yang telah dijelaskan pada uraian materi.

- **Uji Kualitas Mikrobiologi Makanan Berdasarkan *Total Plate Count* Koloni Bakteri**

  1) Tujuan:

  Agar siswa dapat menghitung koloni bakteri yang terdapat dalam sampel bahan makanan dengan metode *TPC* (*Total Plate Count*)

  2) Alat dan Bahan

  - Koloni counter
  - Vortex
  - Rak tabung reaksi
  - Blender atau mortar
  - Pipet ukur 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml
  - Inkubator
  - Lampu spiritus
  - Sampel makanan 10 gr
  - Medium lempeng (*Nutrient Agar*)(6 buah)
  - Aquades sebanyak 90 ml
  - Aquades @9ml sebanyak 5 tabung
  - Alkohol 70%

  3) Cara Kerja

  - **Pembuatan Media**

    (a) Timbanglah nutrient agar (NA) sebanyak 2,4 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer.

    (b) Tambahkan 100 mL akuades.

(c) Panaskan dan aduk hingga mendidih, diamkan beberapa saat.

(d) Tuang ke dalam 6 buah cawan petri dan bungkus cawan petri dengan kertas

(e) Masukkan cawan petri kedalam autoklaf untuk disterilisasi selama 2 jam pada suhu 121^0C dan tekanan 1 atm

- **Uji Kualitas Makanan dengan Metode Angka Lempeg Total (*TPC*)**

a) Siapkan 1 labu erlenmeyer berisi 90 ml aquades dan 5 tabung reaksi berisi aquades 9 ml. Berilah kode A, B, C, D, E, dan F. Kemudian siapkan medium yang telah disterilkan dan berilah kode A, B, C, D, E, dan F.

b) Timbanglah 10 gr bahan makanan, secara aseptis masukkan kedalam labu Erlenmeyer berisi 90 ml aquades kemudian aduk hingga homogen. Ambillah 1 ml larutan dari Erlenmeyer dan masukkan kedalam tabung reaksi A. Lalu kocoklah tabung tersebut secara perlahan hingga larutan menjadi homogen. Kemudian ambillah 1 ml larutan dari tabung reaksi A dan masukkan kedalam tabung reaksi B, kocok perlahan hingga menjadi homogeny. Lakukan pengenceran bertahap tersebut sampai dengan tabung F sehingga didapat larutan dengan tingkat pengenceran 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{3}, 10^{-4}, 10^{-5}, dan 10^{-6}.

c) Secara aseptis, ambillah 0,1 ml larutan dari masing-masing tabung reaksi dan masukkan kedalam cawan petri yang telah berisi medium steril dengan kode yang sesuai. Putar atau goyangkan cawan petri tersebut tercampur rata

d) Inkubasi biakan tersebut pada suhu 37^0C. Setelah 1x 24 jam atau 2 x 24 jam, amati dan hitunglah jumlah koloni

bakteri yang tumbuh pada cawan petri dengan rumus yang telah dijelaskan pada uraian materi.

Dari hasil lembar kerja diatas, buatlah laporan mengenai nilai dari Angka Lempeng Total koloni bakteri dalam tiap gram atau ml sampel (tergantung dari sampel yang diperiksa) dan

5. Latihan Pembelajaran

1. Jelaskan apa yang dimaksud dengan perhitungan mikroba dengan metode TPC?
2. Jelaskan bagaimana hubungan antara jumlah mikroorganisme dalam suatu bahan dengan kualitas produk!
3. Jelaskan teknik pengenceran bertingkat!
4. Jelaskan keuntungan dan kelemahan metode *TPC*!

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr>
<td>Sikap
2.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td>
<td>Non Tes</td>
<td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td>
<td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
Kriteria Terlampir</td>
</tr>
<tr>
<td>2.2. Mengomunikasikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td>
<td>Non Tes</td>
<td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td>
<td>2. Rubrik Penilaian Diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td>
</tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>2.3 Menyumbang pendapat tentang Pemeriksaan Makan dan Minuman dengan metode TPC</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
1. Pemeriksaan Makan dan Kualitas Air dengan Metode TPC</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan apa yang dimaksud dengan perhitungan mikroba dengan metode TPC?
2. Jelaskan bagaimana hubungan antara jumlah mikroorganisme dalam suatu bahan dengan kualitas produk!
3. Jelaskan teknik pengenceran bertingkat!
4. Jelaskan keuntungan dan kelemahan metode TPC</td></tr>
<tr><td>Keterampilan

1. Lembar Kerja</td><td>Non Tes (Tes Unjuk Kerja)</td><td></td><td>1. Rubrik Sikap Ilmiah
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

Indikator	Penilaian		
	Teknik	Bentuk Instrumen	Butir Soal/Instrumen
			2. Rubrik Penilaian Prosedur pengolahan

Aspek	Penilaiaan			
	4	3	2	1
Cara melakukan proses pengolahan				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. **Rubrik Sikap Ilmiah**

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Menanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek menanya **:**

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak menanya

2. Aspek mengamati :

Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat

Skor 3 Terlibat dalam pengamatan

Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan

Skor 1 Diam tidak aktif

3. Aspek menalar

Skor 4 Jika nalarnya benar

Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar

Skor 2 Mencoba menalar walau masih salah

Skor 1 Diam tidak menalar

4. Aspek mengolah data :

Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua

Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar

Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar

Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek menyimpulkan **:**

Skor 4 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar

Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek menyajikan

Skor 4 jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawabsemua petanyaan dengan benar

Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab

Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. **Aspek Terlibat penuh :**

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat

Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. **Aspek bertanya :**

Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tidak bertanya

3. **Aspek Menjawab :**

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang

kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya

Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

4. Aspek Memberikan gagasan orisinil :

Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri

Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun

Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain

Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. **Rublik Penilaian proses pengolahan**

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara melakukan proses pengolahan				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kriteria :

1. **Cara melakukan prosedur pengolahan :**

Skor 4 : jika seluruh tahapan proses dilakukan sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar tahapan proses dilakukan sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil tahapan proses dilakukan sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika tahapan proses tidak dilakukan sesuai dengan prosedur

d. **Cara menuliskan data hasil pengamatan :**

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

2. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4	:	jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar
Skor 3	:	jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar
Skor 2	:	jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar
Skor 1	:	jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

e. Rubrik Presentasi

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4	Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas
Skor 3	Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas
Skor 2	Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas
Skor 1	Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4	Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas
Skor 3	Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan

baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

Kegiatan Belajar 2. Penentuan Jumlah Koloni Kapang

A. Deskripsi

Kapang adalah sekelompok mikroba yang tergolong dalam fungi dengan ciri khas memiliki filament (miselium).Kapang termasuk mikroba yang penting dalam mikrobiologi pangan karena selain berperan penting dalam industri makanan, kapang juga menjadi penyebab kerusakan pangan.Jumlah dan jenis kapang dalam suatu makanan, dapat menentukan apakah makanan tersebut layak dikonsumsi.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah melakukan pembelajaran ini, diharapkan siswa dapat :

a. Mengetahui konsep dan prinsip cara menentukan jumlah koloni kapang dengan cermat dan teliti
b. Melakukan pengujian total kapang dalam sampel
c. Menghitung jumlah total koloni kapang dalam sampel

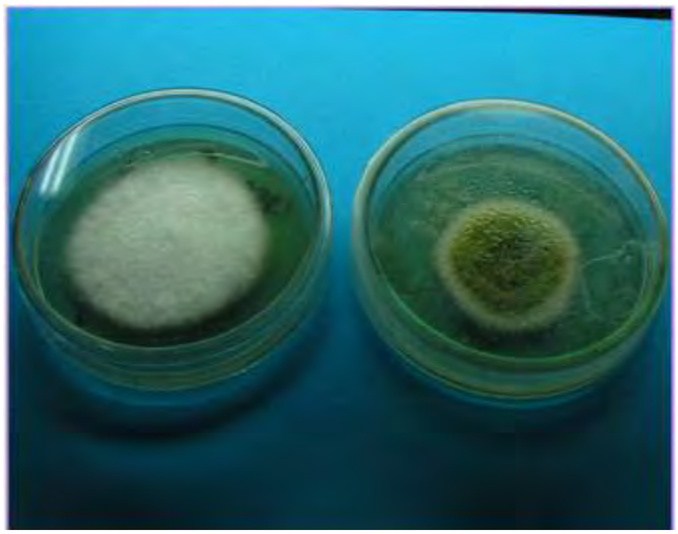
2. Uraian Materi

a. Pengertian dan Ciri-Ciri Kapang

Banyak istilah yang dipergunakan untuk menyebut jamur atau fungi, seperti cendawan, kapang, lapuk atau khamir.Jamur yang berbentuk filament disebut kapang, sedangkan khamir biasanya untuk sebutan yang uniseluler dan yang lebih mencolok penampilannya disebut jamur, misalnya jamur merang, jamur kelentos, dan jamur hijau. Kapang adalah mikroba yang tergolong dalam fungi memiliki lebih dari satu sel berupa benang benang halus yang disebut hifa, kumpulan hifa disebut miselium, dan berkembang biak dengan spora. Kapang termasuk mikroba yang

penting dalam mikrobiologi pangan karena selain brperan penting dalam industri makanan, kapang juga banyak menjadi penyebab kerusakan pangan.

Amatilah gambar kapang dibawah ini! Amatilah ciri-ciri kapang yang



Gambar 7. Morfologi Kapang pada Media PDA

Berikut merupakan ciri-ciri kapang :

- Merupakan organisme yang tidak berklorofil, oleh karena itu bersifat heterotrof. Hidup sebagai parasit, saprofit, dan ada pula yang bersimbiosis.
- Bersifat eukarion (mempunyai inti yang sejati), yaitu materi inti dibungkus oleh membran inti.
- Ada yang bersel tunggal dan ada pula yang bersel banyak, yang bersel banyak berbentuk benang atau filamen. Berdasarkan sifat tersebut

ukuran jamur sangat bervariasi dari yang sangat kecil (mikroskopis) sampai yang berukuran cukup besar (makroskopis).

- Berkembang biak secara vegetatif dan generatif.
- Menyenangi lingkungan yang agak asam, kurang cahaya, terutama di tempat-tempat lembab yang mengandung zat organik.
- Fungi yang bersel banyak tubuhnya tersusun dari benang-benang yang disebut hifa, yang berdiameter 5-10 mikrometer. Hifa dapat bercabang-cabang membentuk anyaman yang disebut miselium. Pada beberapa fungi, dinding sel atau dinding hifa mengandung selulosa, tetapi pada umumnya terutama terdiri atas nitrogen organik, yaitu kitin.

Dari hasil pengamatan bentuk kapang dan informasi yang telah anda dapatkan, jika masih ada yang belum anda pahami, silahkan tanyakan

b. Jenis jenis Kapang

Kapang memiliki berbagai peran dalam kehidupan. Ada kapang yang bersifat menguntungkan ataupun merugikan. Seperti yang terdapat pada gambar dibawah ini





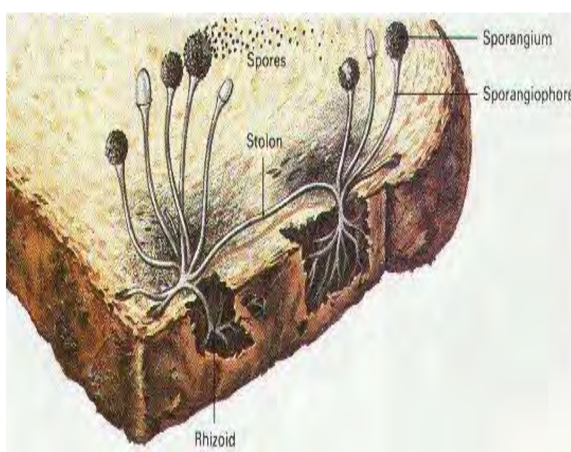
Gambar 8. Tempe dan Oncom

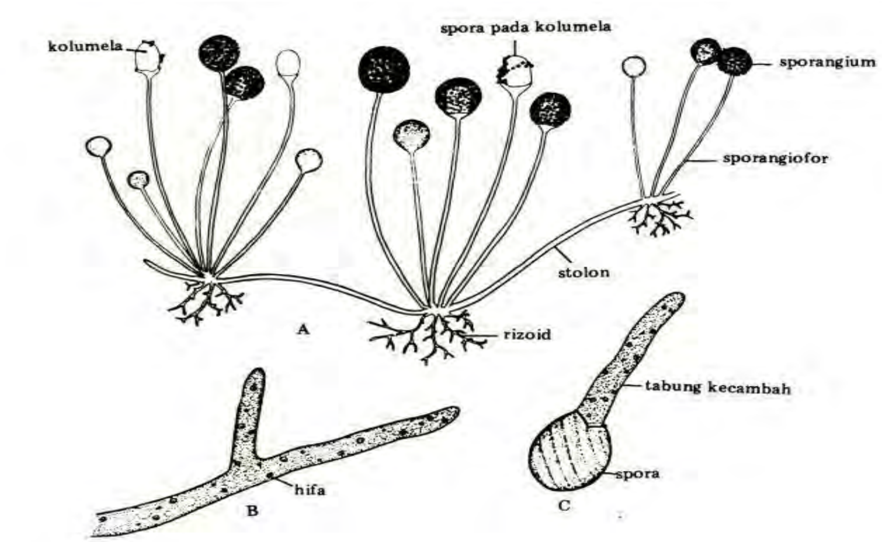
Pernahkan anda mengamati tempe atau oncom? Amatilah produk pangan tersebut. Carilah informasi mengenai jenis kapang yang berperan dalam

Beberapa jenis kapang yang penting dalam mikrobiologi pangan antara lain:

1) Rhizopus

Rhizopus sering disebut kapang roti karena sering tumbuh dan menyebabkan kerusakan pada roti. Selain itu, kapang ini juga sering dijumpai pada sayuran dan buah-buahan. Spesies Rhizopus yang sering tumbuh pada roti adalah *Rhizopus stolonifer* dan *Rhizopus nigricans*. Selain merusak makanan, Rhizopus juga berperan dalam pembuatan beberapa makanan fermentasi, misalnya *Rhizopus Oligosporus* dan *Rhizopus Oryzae* yang digunakan dalam fermentasi tempe dan oncom. Morfologi rhizopus dapat dilihat pada gambar dibawah ini.





Gambar 9. Morfologi Rhizopus

Sumber.
http://kehidupanalamsemesta.blogspot.com/2010/09/fungijamur.html

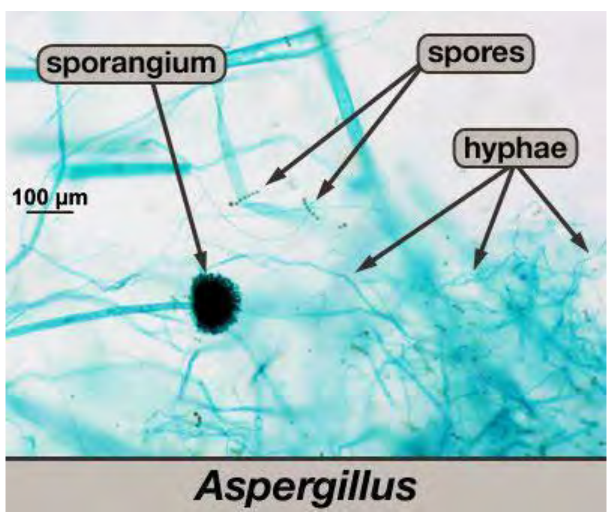
Dari gambar diatas, dapat disimpulkan bahwa ciri-ciri Rhizopus antara lain:

a. Hifa nonseptat
b. Mempunyai stolon dan rhizoid yang berwarna gelap jika sudah tua
c. Sporangiofora tumbuh pada titik dimana terbentuk juga rhizoid
d. Sporangia biasanya besar dan berwarna hitam
e. Kolumela agak bulat dan apofisis berbentuk seperti cangkir
f. Tidak mempunyai sporangiola
g. Membentuk hifa vegetatif yang melakukan penetrasi pada substrat dan hifa fertil yang memproduksi sporangia pada ujung sporangiofora
h. Pertumbuhannya membentuk misellium seperti kapas

Bersama teman sebangku anda, carilah jenis spesies kapang rhizopus lainnya yang berperan ataupun merugikan dalam kehidupan kita sehari-hari.Carilah lewat

2) Aspergillus

Aspergillus merupakan kapang yang tumbuh pada media dengan konsentrasi gula dan garam tinggi, oleh karena itu dapat tumbuh pada makanan dengan kadar air rendah. Salah satu jenis dari Aspergillus yang berperan dalam fermentasi beberapa makanan tradisional adalah *Aspergillus oryzae*. Jenis kapang ini digunakan dalam fermentasi tahap pertama pembuatan kecap dan tauco.



Gambar 10. Aspergillus

Sumber. http://www.deanza.edu/faculty/mccauley/6a-labs-fungi-01.htm

Dari gambar diatas, dapat kita lihat bahwa ciri morfologi Aspergillus antara lain :

a. Hifa septat dan miselium bercabang, biasanya tidak berwarna, yang terdapat dibawah permukaan merupakan hifa vegetatif sedangkan yang muncul diatas permukaan adalah hifa fertil.
b. Koloni kelompok
c. Konidiofora septat dan nonseptat
d. Konidiofora membesar menjadi vesikel pada ujungnya
e. Sterigmata biasanya sederhana berwarna atau tidak berwarna
f. Konidia membentuk rantai yang berwarna hijau, coklat, atau hitam
g. Beberapa spesies tumbuh baik pada suhu 37^{0}C atau lebih

Bersama dengan teman sebangku anda, carilah jenis spesies aspergilus lainnya yang berperan dalam produk makanan.

c. Mutu Produk dan Jumlah kapang

Kapang dapat bersifat menguntungkan dan merugikan.Beberapa jenis kapang bersifat merugikan karena kapangmembentuk mikotoksin yang dikenal sebagai penyebab keracunan akut (Depkes RI, 1998).Salah satu contoh mikotoksin yang diproduksi oleh kapang yang sering mencemari makanan adalah Aflatoksin.Toksin ini dihasilkan oleh kapang *Aspergillus flavus* dan mencemari bahan makanan seperti kacang-kacangan, jagung, dan serealia.

Berbeda dengan toksin yang diproduksi oleh bakteri, mikotoksin pada umumnya tidak menyebabkan penyakit yang bersifat akut. Tetapi timbulnya penyakit biasanya disebabkan oleh konsumsi mikotoksin dalam jumlah kecil secara berulang-ulang dalam jangka waktu yang lama (Supardi, 1999)

Keadaan makanan yang telah ditumbuhi kapang yang tidak diinginkan pada permukaannya menandakan bahwa makanan tersebut tidak aman untuk dikonsumsi.Membersihkan kapang pada makanan melalui pencucian tidak dapat mengurangi kemungkinan bahaya yang timbul karena toksin yang diproduksi oleh kapang selama pertumbuhannya dapat terserap ke bagian dalam makanan.Umumnya mikotoksin bersifat tahan panas, sehingga pengolahan atau pemanasan tidak menjamin hilangnya atau berkurangnya keaktifan mikotoksin yang ada.

Bersama dengan kelompok anda, Carilah informasi mengenai persyaratan standar mutu jumlah kapang pada beberapa produk makanan

d. Teknik atau Prosedur Analisis Jumlah Kapang

Media yang paling umum digunakan untuk menumbuhkan jamur/kapang/fungi adalah media PDA (Potato Dextrose Agar). Bahan baku utama media ini adalah ekstrak kentang dengan penambahan sumber karbon berupa dextrose.

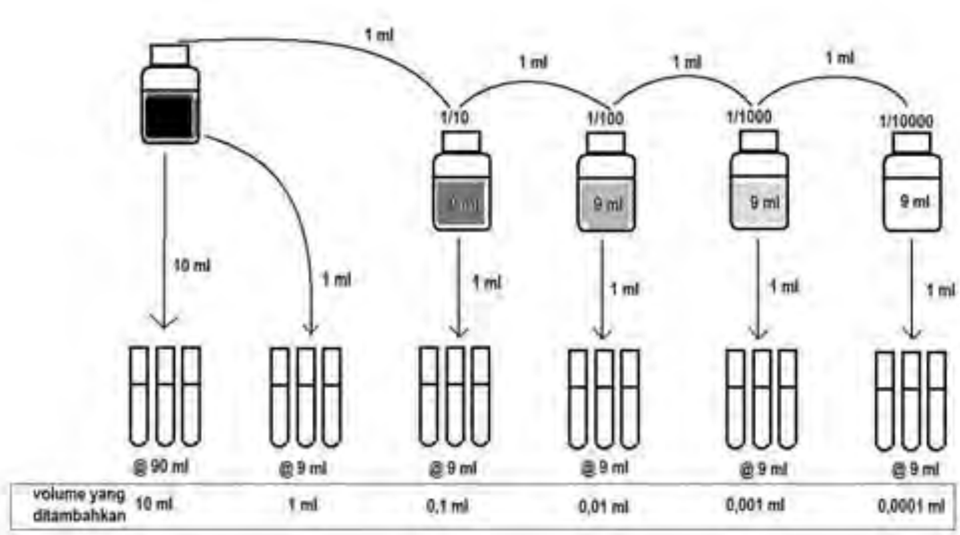
Dibawah ini merupakan contoh pengujian uji kapang menurut MA PPOM 90/MB/85:

Isolasi Kapang

a. Jika berupa sampel cair, Ambillah sampel dengan pipet sebanyak 10 ml dan masukkan kedalam Erlenmeyer steril serta tambahlah larutan pengencer 90 ml, kemudian kocok sehingga diperoleh suspense dengan pengenceran 10^{-1}

Jika berupa sampel padat, ambillahsebanyak 25 g sampel kemudian tambahkan larutan pengencer sebanyak 225 ml sehingga diperoleh suspense dengan pengenceran 10^{-1}.

b. Siapkan 5 tabung steril yang masing-masing telah diisi dengan 9 ml larutan pengencer
c. Dari pengenceran 10^{-1}, pipetlah sebanyak 1 ml dan masukkan pada tabung 1 sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2}
d. Selanjutnya, buatlah pengenceran hingga 10^{-5} atau sesuai yang diperlukan
e. Dari setiap pengenceran ambillah 1 ml dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan dibuat duplo
f. Ke dalam setiap cawan petri tersebut tuangi media PDA (Potato Dextrose Agar) sebanyak 5-20 ml
g. Goyang dan putarlah cawan petri sedemikian rupa hingga larutan menyebar merata
h. Setelah media memadat, inkubasi pada suhu 20-25^{0}C selama 3-7 hari. Amati dan hitunglah jumlah koloni.



Gambar 11. Prosedur isolasi kapang

Perhitungan Koloni

Perhitungan koloni kapang berdasarkan pada syarat-syarat berikut ini.

(1) Jika anda mendapatkan cawan yang mengandung jumlah koloni sebanyak 10-150 koloni, maka rumus perhitungan yang digunakan adalah sebagai berikut.

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2)] \times (d)}$$

Dengan :

N : Jumlah koloni produk, dinyatakan dalam koloni per ml atau koloni per g.

$\sum C$: Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung

n_1 : Jumlah cawan pada pengenceran pertama yang di hitung

n_2 : Jumlah cawan pada pengenceran kedua yang di hitung

d : Pengenceran pertama yang di hitung.

CONTOH :

Dilakukan suatu pengujian kapang terhadap tempe yang telah membusuk. Dari hasil pengujian didapatkan hasil sebagai berikut.

Pengenceran	1:100 (10^{-2})	1:1000 (10^{-3})
Jumlah Koloni	132 dan 144	23 dan 18

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa pada seri pengenceran 10^{-2} didapatkan jumlah koloni sebanyak 132 koloni (di cawan 1) dan 144 koloni (di cawan 2).Sementara pada seri pengenceran 10^{-3} didapatkan jumlah koloni sebanyak 23 koloni dan 18 koloni.Dari data tersebut kemudian dimasukkan kedalam rumus perhitungan koloni sebagai berikut:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n_1) + (0{,}1 \times n_2)] \times (d)}$$

$$N = \frac{(132 + 144 + 23 + 18)}{[(1 \times 2) + (0{,}1 \times 2)]\ 10^2}$$

= 317/0,022

= 14.409

= 14.000 koloni per g

Dari perhitungan tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa dalam 1 gram tempe terdapat 14.000 koloni kapang.

(2) Jika jumlah koloni per cawan lebih dari 150 pada seluruh pengenceran, maka laporkan hasilnya sebagai terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), tetapi jika salah satu pengenceran mempunyai jumlah koloni mendekati 150, maka laporkan sebagai perkiraan jumlah kapang.

CONTOH:

Dalam suatu pengujian jumlah total kapang dalam tempe didapatkan hasil sebagai berikut:

Pengenceran	1 : 100 (10^{-2})	1 : 1000 (10^{-3})	1 : 10000 (10^{-4})	1:100000 (10^{-5})
Jumlah koloni	TBUD	TBUD	TBUD	155

Dari data tersebut, dapat dilihat bahwa pada pengenceran 10^{-2}, 10^{-3}, dan 10^{-4} m jumlah koloni jauh melebihi 150 koloni sehingga dinyatakan sebagai terlalu banyak untuk dihitng (TBUD).Sementara pada pengenceran 10^{-5}, terdapat 155 koloni. Maka perkiraan kapang pada 1 gram tempe adalah 155 koloni.

Pelaporan

Dalam melaporkan perhitungan kapang harus memperhatikan hal-hal berikut, antara lain:

- Untuk menghasilkan perhitungan yang akurat dan teliti, maka laporkan hasilnya dengan dua angka (digit) pertama sebagai hasil pembulatan.
- Pembulatan keatas dengan cara menaikkan angka kedua menjadi angka yang lebih tinggi bila angka ketiga adalah 6,7,8 atau 9 dan gunakan angka 0 untuk masing-masing angka pada digit berikutnya.
- Pembulatan kebawah bila angka ketiga adalah 1,2,3 atau 4. Bila angka ketiga 5, bulatkan keatas bila angka kedua ganjil dan bulatkan kebawah bila angka kedua itu genap.

CONTOH :

Hasil Perhitungan	**Nilai TPC**
12.700	13.000
12.400	12.000
15.500	16.000
14.500	14.000

- Beri tanda bintang (*) untuk cawan yang kurang dari 10 koloni.

CONTOH :

Pengenceran : 1:100 1:1000

Jumlah Koloni : 8 dan 0 2 dan 0

Perkiraan TPC Koloni : Lebih kecil 1.400* per ml atau koloni per g.

Setelah membaca metode perhitungan total koloni kapang diatas, bersama dengan kelompok anda, carilah metode atau cara pengujian perhitungan koloni kapang dalam suatu makanan dan bandingkan hasil anda

3. Refleksi

Petunjuk :

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersebut
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi!
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....
2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....
3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
4. Apa yang akan anda lakukan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....
5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

Lembar kerja 1.

Tugas

Teknik Dilusi (Pengenceran)

Alat dan Bahan:

a. Mikro pipet
b. Pembakar bunsen
c. Tabung reaksi dan rak
d. Kultur mikroorgani**Tugas**

4. Tugas

a. Pengamatan Kapang Kontaminan pada Makanan

1) Tujuan

- Untuk mengetahui ciri-ciri morfologi makanan yang terkontaminasi kapang
- Untuk mengenal beberapa macam kapang yang mengontaminasi makanan

2) Alat dan Bahan

Alat

- Mikroskop
- Jarum inokulasi
- Spiritus
- Kaca benda
- Kaca penutup
- Pipet

Bahan

- Makanan yang terkontaminasi kapang (tempe, roti,oncom, dll)
- Alkohol 95%
- Larutan *lactophenol*
- Larutan *lactophenol cotton blue*

3) Cara Kerja

a) Lakukan pengamatan morfologi koloni pada tiap macam kapang pada makanan yang diamati
b) Sediakan kaca benda bersih, lalu lewatkan diatas nyala api lampu spiritus
c) Teteskan alcohol 95% diatas kaca benda tersebut
d) Buatlah sediaan dari tiap macam kapang yang tumbuh pada makanan yang tersedia, masing-masing 2 buah sediaan
e) Teteskan setetes larutan lactophenol di atas sediaan tersebut, kemudian tutuplah dengan kaca penutup. Teteskan juga larutan lactophenol cotton blue pada sediaan kapang yang lain, lalu tutuplah dengan kaca penutup
f) Amatilah sediaan dibawah mikroskop. Perhatikan ada atau tidaknya sekat pada hifa, jenis alat perkembangbiakkan, dan ciri-ciri koloni jamur
g) Selanjutnya isilah hasil pengamatan kelompok anda pada tabel berikut ini

Ciri	Koloni 1	Koloni 2
1. **Morfologi Koloni** a. Warna koloni b. Sifat koloni		
2. **Mikroskopis Kapang** a. Miselium : ada/tidak b. Sekat hifa : ada/tidak c. Spora : ada/tidak d. Bentuk spora		

b. Menghitung Total Koloni Kapang dalam Sampel Makanan

1) ALAT DAN BAHAN

Alat :

- Cawan petri
- Pipet ukur 1 mL
- Termometer
- Inkubator
- Neraca analitik
- Pipet ukur 25 mL
- Vortex Spatula
- Mikropipet Tip
- Botol sample
- Autoclave
- Pembakar
- Magnet stirer
- Hot plate
- Beaker glass
- Tabung reaksi Bulp

Bahan :

- Media PDA (Potato Dextro Agar)
- Aquadest
- Sample tepung

2) PROSEDUR

Membuat Media

- Membersihkan kentang dan mengupasnya, kemudian cincang sampai halus.
- Menimbang kentang yang sudah halus sebanyak 100 gram

- Memasukan kentang yang sudah ditimbang dalam beaker glass, dan mengisinya dengan aquadest.
- Kemudian rebus selama 1 jam
- Menyaring kentang dan air rebusan dengan menggunakan kain saring yang bersih.
- Menambahkan agar dan glukosa ke dalam filtrat, kemudian memanaskannya kembali sampai agar larut.
- Menambahkan aquadest sampai volume semula.
- Menambahkan asam tartrat 10% hingga pH media mencapai 3,5-4,0
- Memindahkan media yang sudah jadi tersebut ke dalam erlenmeyer yang steril
- Mensterilkan media dalam autoclave dengan suhu 121^{o}C selama 15 menit

Persiapan alat dan bahan

- Menyiapkan tabung reaksi yang berisi aquadest steril sebanyak 9 mL dan botol untuk sampel, yang berisi aquadest steril sebanyak 225 gram
- Menyiapkan alat yang akan dipergunakan
- Mensterilkan alat yang akan dipergunakan dan tabung reaksi dan botol yang berisi aquadest steril tadi dalam autoclave pada suhu 121^{o}C selama 15 menit.

Pengenceran

- Menimbang sampel tepung sebanyak 25 gram dan memasukannya ke dalam botol yang berisi aquadest steril 225 mL steril.
  o Mengocoknya secara manual sebanyak ± 25 kali sampai homogen
- Membuat pengenceran dari 10^{-1} sampai pengenceran yang dibutuhkan
- Melakukan semua tahap secara aseptis

Inokulasi

- Memipet hasil pengenceran dalam tabung reaksi masing-masing 1 mL, dan memasukannya dalam cawan petri steril.
  o Menuangkan media PDA steril hangat (suhu sekitar 45 ± 1^{o}C) sebanyak 15-20 mL, ke dalam cawan petri steril yang berisi hasil pengenceran
- Menggerakan petri secara memutar atau membentuk angka delapan, sehingga hasil pengenceran dan media dapat bercampur secara homogen
- Melakukan setiap tahapan diatas secara aseptis
- Membiarkan sampai media dalam cawan membeku atau mengeras
- Memasukan cawan petri tersebut dalam inkobator pada suhu 25oC atau sekitar suhu kamar selama 5 hari, dan posisikan cawan petri secara terbalik.
- Menghitung koloni kapang

5. Latihan Pembelajaran

Jawablah pertanyaan dibawah ini

Gambarkan dan Jelaskan morfologi kapang secara keseluruhan

Bagaimana pengaruh jumlah koloni kapang terhadap mutu produk secara keseluruhan?

Media apa yang umumnya digunakan dalam isolasi kapang?bagaimana proses pembuatannya?

Bagaimana cara perhitungan total koloni kapang?

Apa tujuan dari perhitungan jumlah koloni kapang?

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>Sikap
2.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
Kriteria Terlampir</td></tr>
<tr><td>2.2 Mengompromikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik Penilaian Diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>2.3 Menyumbang pendapat tentang bahan baku atau media untuk pembuatan produk makanan/ minuman/ bahan industri</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
a. Prinsip dan konsep cara perhitungan kapang
b. Tujuan dari menghitung total koloni kapang
c. Menghitung jumlah total koloni kapang dan cara pelaporannya</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Gambarkan dan Jelaskan morfologi kapang secara keseluruhan
2. Bagaimana pengaruh jumlah koloni kapang terhadap mutu produk secara keseluruhan?
3. Media apa yang umumnya digunakan dalam isolasi kapang?bagaimana proses pembuatannya?
4. Bagaimana cara perhitungan total koloni kapang?
5. Apa tujuan dari perhitungan jumlah koloni kapang?</td></tr>
<tr><td>Keterampilan

1. Merangkai alat / alat peraga/model sesuai susunan yang benar / alat sterilisasi alat dan bahan
2. Menggunakan alat/ alat peraga/mode</td><td>Non Tes (Tes Unjuk Kerja)</td><td></td><td>1. Rubrik Sikap Ilmiah
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>l untuk menghitung jumlah total koloni kapang</td><td></td><td></td><td>2. Rubrik Penilaian Prosedur pengolahan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara melakukan proses pengolahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
</td></tr>
</table>

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Menanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek menanya **:**

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak menanya

2. Aspek mengamati :

Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat

Skor 3 Terlibat dalam pengamatan

Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan

Skor 1 Diam tidak aktif

3.Aspek menalar

Skor 4 Jika nalarnya benar

Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar

Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah

Skor 1 Diam tidak beralar

4.Aspek mengolah data :

Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua

Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar

Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar

Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5.Aspek menyimpulkan **:**

Skor 4 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar

Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6.Aspek menyajikan

Skor 4 jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawabsemua pertanyaan dengan benar

Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab

Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1.Aspek Terlibat penuh :

Skor 4	Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat
Skor 3	Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat
Skor 2	Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat
Skor 1	Diam sama sekali tidak terlibat

2.Aspek bertanya :

Skor 4	Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas
Skor 3	Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas
Skor 2	Kadang-kadang memberikan pertanyaan
Skor 1	Diam sama sekali tdak bertanya

3.Aspek Menjawab :

Skor 4	Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas
Skor 3	Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas
Skor 2	Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya
Skor 1	Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

3. Aspek Memberikan gagasan orisinil :

Skor 4	Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri
Skor 3	Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan
Skor 2	Kadang-kadang memberikan gagasan/ide
Skor 1	Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun

Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain

Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rublik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kritera :

1. Cara merangkai alat :

Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3: jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

B. Rubrik Presentasi

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Kejelasan Presentasi				
Pengetahuan				
Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas

Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengka[	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

Kegiatan Pembelajaran 3. Identifikasi Bakteri E. Coli dengan Metode IMVIC

A. Deskripsi

Bakteri coliform adalah suatu kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi dan kondisi yang tidak baik terhadap makanan atau minuman.Adanya bakteri coliform dalam suatu makanan dan minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah melakukan pembelajaran ini, diharapkan siswa dapat:

a. Menerapkan konsep dan prinsip identifikasi bakteri *e coli* menggunakan metode MPN dan IMVIC

b. Melakukan identifikasi bakteri *e coli* dengan menggunakan metode MPN dan IMVIC

2. Uraian Materi

Sebelum masuk kealam materi pada kompetensi dasar ini, apa yang ada ketahui tentang bakteri coliform khususnya spesies *Escherichia coli*? Amati dan carilah informasi mengenai bakteri coliform dari berbagai media.

a. Escherichia coli

Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroflora normal pada usus kebanyakan hewan berdarah panas.Bakteri ini tergolong bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, kebanyakan bersifat motil (dapat bergerak) menggunakan flagela, ada yang mempunyai kapsul, dapat menghasilkan gas dari glukosa, dan dapat memfermentasi laktosa. Kebanyakan strain tidak bersifat membahayakan, tetapi ada pula yang bersifat patogen terhadap manusia, seperti *Enterohaemorragic Escherichia coli* (EHEC). *Escherichia coli* merupakan tipe EHEC bersifat patogen terkait dengan kesehatan masyarakat.*E. coli* dapat masuk ke dalam tubuh manusia terutama melalui konsumsi pangan yang tercemar, misalnya daging mentah, daging yang dimasak setengah matang, susu mentah, dan cemaran fekal pada air dan pangan.

Untuk menghitung bakteri Coliform *(Total Colifrom*) dapat digunakan metode MPN (*Most ProbableNumber*). MPN merupakan suatu metode untuk menghitung jumlah mikroba dengan menggunakan media cair dalam tabung reaksi yang pada umumnya setiap pengenceran menggunakan 3 seri tabung dan perhitungan yang dilakukan merupakan tahap pendekatan secara statistik. Tabung positif ditunjukkan oleh adanya pertumbuhan bakteri dan gas (SNI 2332.9:2001). Nilai MPN diperoleh dengan asumsi sebagai berikut:

- Bakteri dalam contoh menyebar secara random
- Bakteri dalam contoh tidak berkelompok tetapi saling terpisah
- Organisme yang terdapat dalam contoh dapat tumbuh dalam media selama inkubasi
- Kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan seperti media, suhu, dan waktu inkubasi.

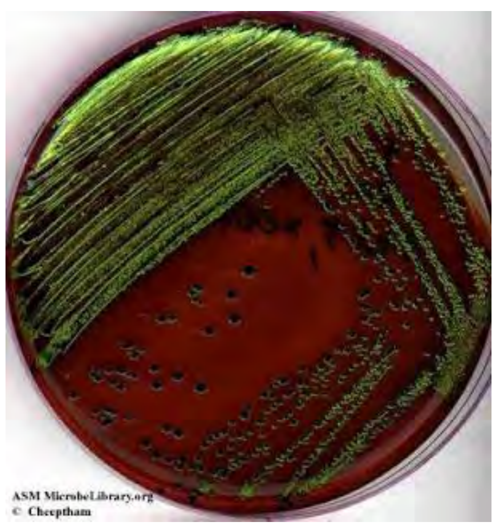
Perhitungan MPN berdasarkan pada jumlah tabung reaksi yang positif, yakni yang ditumbuhi oleh mikroba setelah diinkubasi pada suhu dan

waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan atau terbentuknya gas di dalam tabung kecil (tabung durham) yang diletakan terbalik, yaitu jasad renik yang membentuk gas (Waluyo, 2008).

Beberapa media yang biasa digunakan dalam analisa coliform antara lain:

***Eosin Methylen Blue Agar* (EMB Agar)**

Eosin methylene blue agar merupakan salah satu media selektif yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif.Eosin dan pewarna biru metilen menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan mendukung pertumbuhan bakteri gram negatif.Media ini mengandung laktosa dan sukrosa. Mikroba yang dapat memfermentasi laktosa akan menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dan kilap logam, sedangkan mikroba yang tidak dapat memfermentasi laktosa, koloninya tidak berwana. Adanya eosin dan metilen blue membantu mempertajam perbedaan tersebut.Media ini cocok untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *E coli*. Pada media ini, *E coli* yang tumbuh akan memberikan warna khas kemilau hijau metalik.



Gambar 12. E coli dalam media EMB Agar

Sumber. ASM microlibrary.org

Lactose Broth

Lactose broth digunakan sebagai media untuk mendeteksi kehadiran koliform dalam air, makanan, dan produk susu. Pepton dan ekstrak beef menyediakan nutrien penting untuk metabolisme bakteri.Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasi untuk organisme coliform.Media ini biasanya digunakan dalam presumptive test atau uji penduga untuk bakteri coliform. Kehadiran coliform ditandai dengan munculnya gas pada tabung durham. Lactose broth dibuat dengan komposisi 0,3% ekstrak beef; 0,5% pepton; dan 0,5% laktosa.



Gambar 13. Lactose broth positif coliform (kiri) dan Lactose broth negative coliform (kanan)

Sumber.http://www.eplantscience.com/index/microbiology_methods/colour_plates/colour_plates02.php

NutrientAgar(NA)

Nutrien agar adalah medium umum untuk uji air dan produk dairy. NA juga digunakan untuk pertumbuhan mayoritas dari mikroorganisme yang tidak selektif, dalam artian mikroorganisme heterotrof. Media ini merupakan media sederhana yang dibuat dari ekstrak beef, pepton, dan agar. Na merupakan salah satu media yang umum digunakan dalam prosedur bakteriologi seperti uji biasa dari air, sewage, produk pangan, untuk

membawa stok kultur, untuk pertumbuhan sampel pada uji bakteri, dan untuk mengisolasi organisme dalam kultur murni. Untuk komposisi nutrien adar adalah eksrak beef 10 g, pepton 10 g, NaCl 5 g, air desitilat 1.000 ml dan 15 g agar/L. Agar dilarutkan dengan komposisi lain dan disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. Kemudian siapkan wadah sesuai yang dibutuhkan. Dalam identifikasi *e coli* ini, media NA berperan sebagai media untuk menumbuhkan kultur murni dari *e coli*.

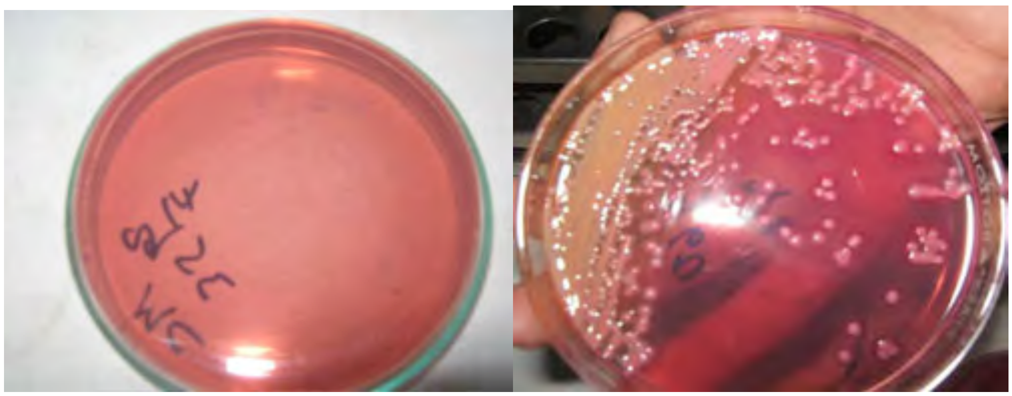
VRBA (*Violet Red Bile Agar*)

VRBA dapat digunakan untuk perhitungan kelompok bakteri Enterobacteriaceae. Agar VRBA mengandung kristal violet yang bersifat basa, sedangkan sel mikroba bersifat asam. Bila kondisi terlalu basa maka sel akan mati. Media ini mengandung ekstrak yeast,pepton, salt, bile, glukosa, kristal violet, neutral red, dan agar. Yeast ekstrak menyediakan vitamin B-kompleks yang mendukung pertumbuhan bakteri. Laktosa merupakan sumber karbohidrat.Neutral red sebagai indikator pH.Agar merupakan agen pemadat. Campuran bile, salt dan kristal violet menghambat bakteri gram positif.Degradasi laktosa menjadi asam diindikasikan oleh pH indikator neutral red yang mengubah warna menjadi merah dan mengendapkan asam bile.

MacConkey Agar

Media MacConkey Agar mempunyai keistimewaan memilah bakteri enteric gram negatif yang memfermentasi laktosa karena media ini mengandung laktosa, crystal violet dan neutral red bile salt. Penggabungan crystal violet dan neutral red bile saltakan menghambat pertumbuhan mikroba gram positif, sedangkan laktosa merupakan satu satunya sumber karbohidrat.Kemampuan e coli memfermentasi laktosa menyebabkan penurunan pH, sehingga mempermudah absorbsi neutral red untuk

mengubah koloni menjadi merah bata dan mengendapkan bile empedu. Koloni lain (S. aureus, P.aeruginosa, dan Salmonella), bila tumbuh tidak akan berwarna karena tidak mampu memfermentasi laktosa. Mikroba lain yang dapat tumbuh di media ini antara lain Enterobacter, Proteus, Salmonella, Shigella, Aerobacter,Enterococcus



Gambar 14. MacConkey Agar dan MacConkey Agar yang ditumbuhi bakteri

MacConkey Broth

MacCONKEY broth terdiri dari 3 unsur penting yang saling menunjang, yaitu laktosa, garam dan indikator. Laktosa, berfungsi sebagai agent yang bila terdegradasi akan memproduksi gas. Gas tersebut menunjukkan pertumbuhan *E. coli,* gas yang terbentuk ditampung dalam tabung durham. Garam, dalam hal ini digunakan "*ox bile*" berfungsi sebagai *selective agent*.Garam menghambat pertumbuhan beberapa organisme pencernaan, tetapi tidak untuk *E. coli*.Sedangkan *bromocresol purple* bertindak sebagai indikator. E. coli yang hidup akan memproduksi asam. Keberadaan asam tersebut akan mengubah warna *bromocresol purple*dari ungu ke kuning.

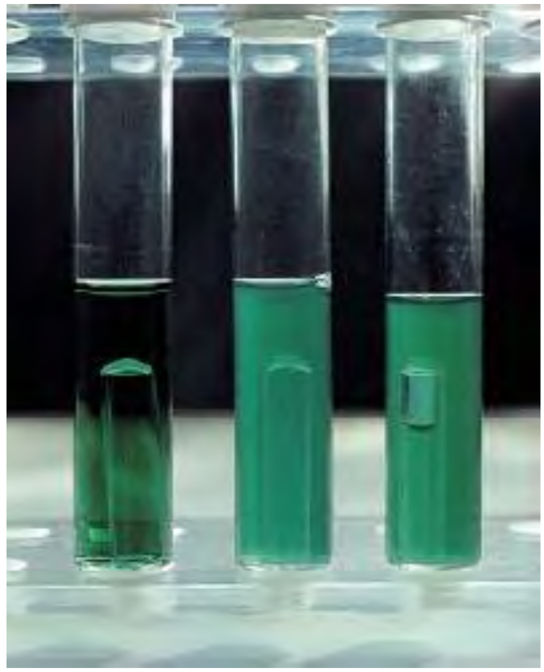


Gambar 15. MacConkey broth (ungu) dan MacConkey broth yang ditumbuhi bakteri

Brilliant Green Lactose Bile Broth

Media Brilliant Green Lactose Bile Broth merupakan generasi penerus dari Media MacConkey broth.Pada tahun 1920-an, media BGLBB mulai dikenalkan sebagai media deteksi dan konfirmasi anggota grup aerogenes.Berbeda dengan MacConey Broth, Briliant Green Lactose Bile Broth tidak menggunakan indikator.Komponen utamanya adalah laktosa (fermenting agent), garam (selective agent), dan brilliant green (completely selective agent).

Keunikan dari media ini terdapat pada keseimbangan penghambatan brilliant green dan garam.Garam dan brilliant green sangat sempurna menghambat pertumbuhan organisme clostridia yang mendegradasi laktosa (lactose-degrading clostridia) seperti Clostridium perfingens. Cl. perfingens sering menyebabkan kesalahan hasil positif pada tabung durham, karena dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas.



Gambar 16.
http://85.238.144.18/analytics/Micro_Manual/TEDISdata/prods/1_05454_0500_5000.html

Dari berbagai informasi dan paparan yang telah anda dapatkan, Jika masih ada hal yang masih belum jelasn dapat anda tanyakan langsung ke

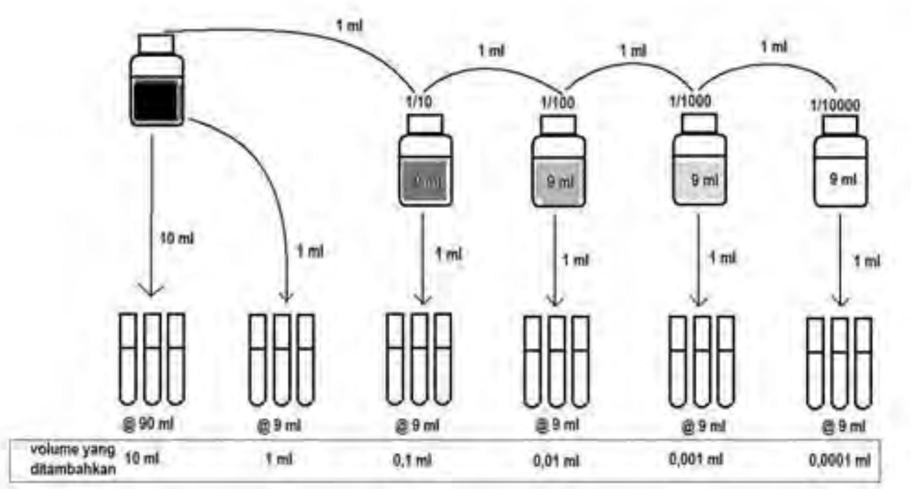
Identifikasi *e coli* Dengan Metode MPN

Identifikasi*e coli* didahului dengan pengenceran sampel yang akan dianalisis. Pengenceran dilakukan dengan cara mencampurkan sampel dengan berat atau volume tertentu pada larutan pengencer yang telah disterilkan. Larutan pengencer yang biasa digunakan antara lain:

- Pengencer umum : 0,1% pepton + 0,85% natrium klorida (NaCl)

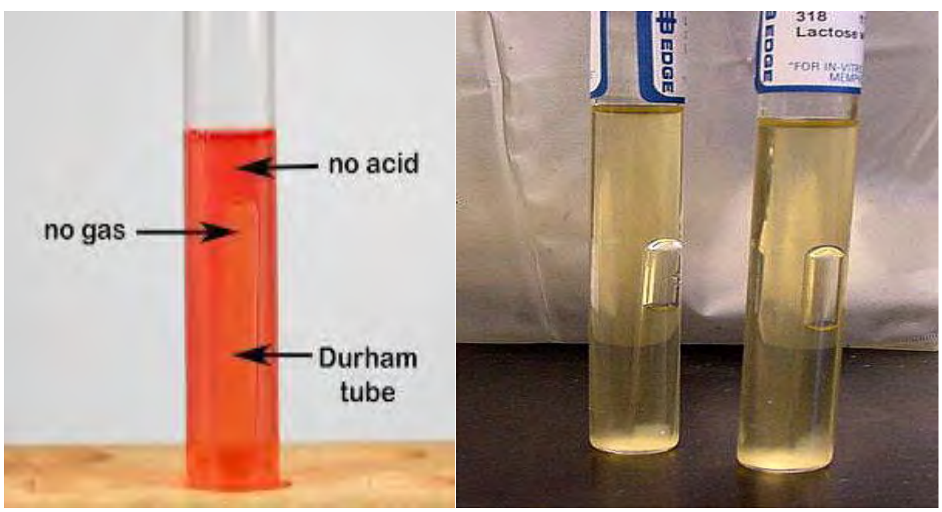
- Pengencer untuk mikroba anaerobic
- Pengencer yang digunakan untuk pertumbuhan mikroba anaerob harus mampu menjaga potensial oksidasi reduksipengencer tetap rendah. Mikroba anaerob sangat rentan terhadap oksigen, sehingga perlu penggunaan teknik khusus seperti aplikasi teknik Hungate atau penggunaan ruang anaerobic.
- Pengencer untuk mikroba osmofilik dan halofilik
- Pengencer yang digunakan untuk mikroba osmofilik adalah larutan pengencer yang mengandung 20% larutan sukrosa steril.
- Pengencer yang digunakan untuk mikroba halofilik adalah larutan pengencer yang mengandung 15% natrium klorida (NaCl) steril.

Selanjutnya pengenceran akan lebih mudah dihitung jika dilakukan secara desimal 1:10 (b/v atau v/v), misalnya 10 ml sampel dimasukkan ke dalam 90 ml atau 25 gr sampel dimasukkan ke dalam 225 ml larutan pengencer sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1}. Selanjutnya, diambil sebanyak 10 ml dari pengenceran pertama dan dimasukkan kedalam 90 ml pengeceran kedua sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2}.Kemudian diulang terus sampai pada pengenceran yang kita harapkan.



Gambar 17. Seri pengenceran

Pada prinsipnya, ada beberapa tahapan dalam indentifikasi e coli dengan menggunakan metode MPN, antara lain: Uji penduga atau uji presumtif, uji penegas atau uji konfirmasi, dan uji pelengkap. Pengujian MPN *Coliform* dan *Escherichia coli* menggunakan media *Lactose broth* (LB) dan tabung Durham. LB merupakan media perbenihan selektif yang mengandung laktosa. Tabung durham digunakan untuk mengetahui adanya pembentukan gas oleh bakteri yang terdapat dalam sampel tersebut. Terbentuknya gas dan asam menandakan adanya *Escherichia coli* dan bakteri *Coliform*.Jika pada suatu uji hanya terbentuk gas menandakan adanya *Coliform* tanpa ada *Escherichia coli.*Terbentuknya asam ditandai dengan perubahan warna biakan menjadi kuning.Tabung yang belum menunjukkan reaksi positif, diinkubasi lagi selama 24 jam.Jika setelah masa inkubasi kedua ini ditemukan gas, maka dilanjutkan uji selanjutnya.Namun apabila tetap tidak terbentuk gas, maka hasilnya dianggap negatif dan tidak perlu dilakukan uji lanjutan.Uji positif juga ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna medium yaitu dari merah menjadi kuning atau oranye.Tahap ini merupakan uji presumtif.



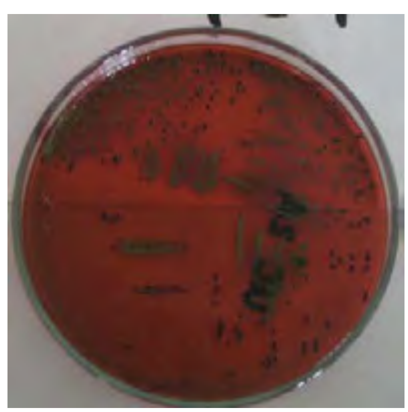
Gambar 18. Lactose Broth hasil negative (kiri) dan Lactose Broth hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna media dan adanya gas dalam tabung durham (kanan)

Sampel yang menunjukkan uji penduga positif dilanjutkan ke uji penegasan. Uji penegasan atau uji konfirmasi*Coliform* menggunakan media *Brilliant Green Lactose Bile broth* (BGLBB) yang didalamnya dilengkapi dengan tabung durham. Kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37^{0}C. Uji ini dinyatakan positif jika terbentuk gas dalam tabung durham.



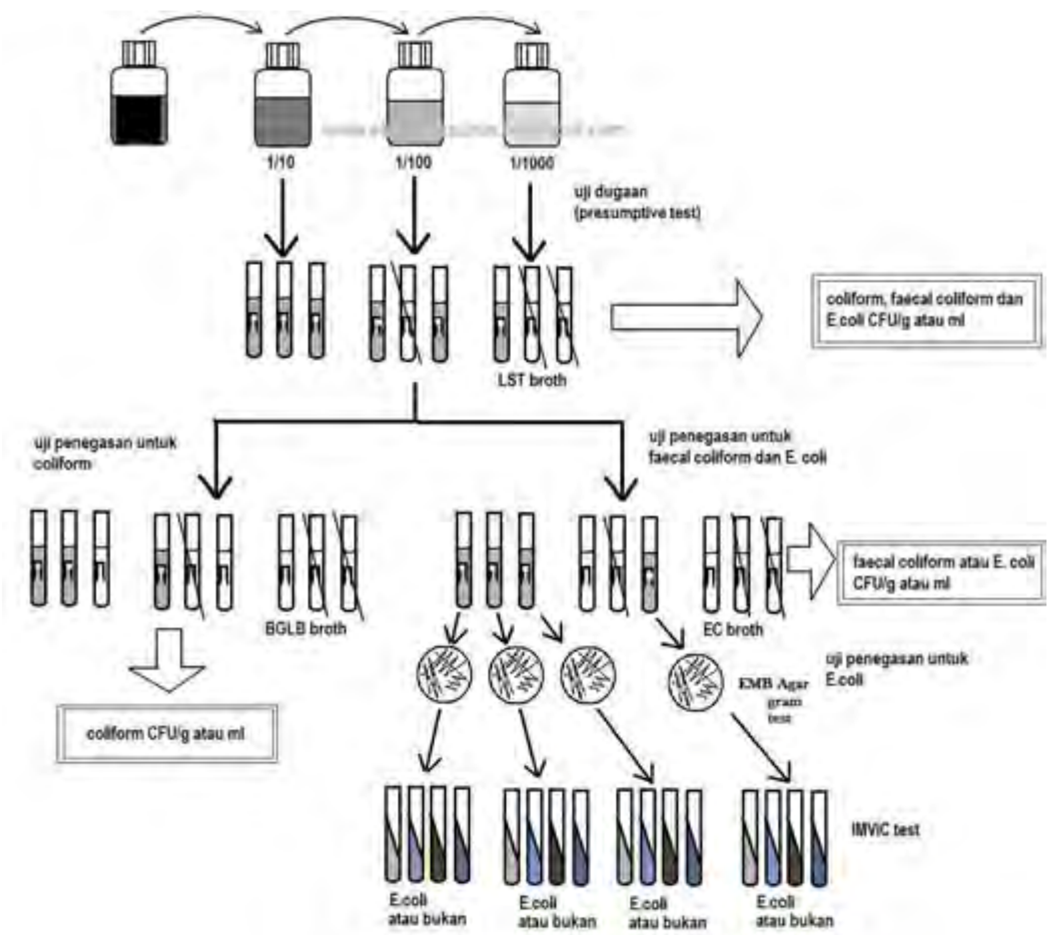
Gambar 19. Hasil uji negative (kiri) dan hasil uji positif yang ditandai adanya gelembung gas pada tabung durham (kanan)

Sampel yang menunjukkan uji penegasan positif dilanjutkan ke uji pelengkap.Biakan dalam tabung yang positif digorekan ke media *Eosin Methylen BlueAgar* (EMBA) yang merupakan media diferensial untuk *Escherichia coli*.Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37^{0}C. Koloni spesifik tumbuh dengan ciri-ciri bentuk bulat, diameter 2-3 mm, warna hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan di tengahnya.



Gambar 20. Media EMBA yang positif *e coli*

Koloni tersebut selanjutnya diuji pewarnaan Gram, diinokulasikan ke media NA (Nutrient Agar) miring. Biakan yang diinokulasikan ke dalam media NA selanjutnya diinkubasi pada suhu 37^{0}C selama 24 jam. Kemudian diamati perubahan warna dan gas yang terbentuk pada tabung berisi media dan biakan. Secara keseluruhan, uji coliform dapat digambarkan seperti dibawah ini



Gambar 21. Tahapan Uji Coliform dengan seri pengenceran 3 tabung

Setelah melakukan identifikasi bakteri tersebut, selanjutnya kita dapat melakukan perhitungan jumlah bekteri dengan metode Most Probable Number (MPN)

b. Perhitungan Mikroba dengan Teknik Most Probable Number (MPN)

Ada berbagai teknik dalam perhitungan mikroba. Analisis tersebut antara lain analisis kualitatif dan kuantitatif. Apakah anda telah mengetahui tentang analisis kualitatif dan analisis kuantitatif? Dalam kegiatan pembelajaran ini, Kita akan membahas teknik MPN dalam analisis mikroba. Apakah anda tahu, teknik MPN termasuk dalam ke analisis kuantitatif atau kualitatif?

Teknik *Most Probable Number* (MPN) banyak digunakan untuk menghitung populasi mikroba dalam bahan atau produk pangan.Metode ini merupakan metode untuk memperkirakan jumlah mikroba pada sampel secara tidak langsung.Berbeda dengan metode cawan yang menggunakan media agar atau media padat, dalam metode MPN digunakan media cair yang ditempatkan dalam tabung reaksi.Perhitungan MPN didasarkan pada tabung rekasi yang positif, yaitu tabung yang ditumbuhi mikroba. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dari timbulnya kekeruhan atau timbulnya gas pada tabung durham yang diletakkan pada posisi terbalik.

Metode MPN didasarkan pada pengenceran contoh. Prinsipnya, bila contoh diencerkan terus menerus, maka pada akhirnya akan diperoleh larutan yang tidak mengandung mikroba (steril). Dalam metode MPN, setiap pengenceran pada umumnya dengan menggunakan 3 atau 5 seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan akan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi. Teknik pengenceran ini akan memberikan hasil baik bila asumsinya terpenuhi, yaitu:

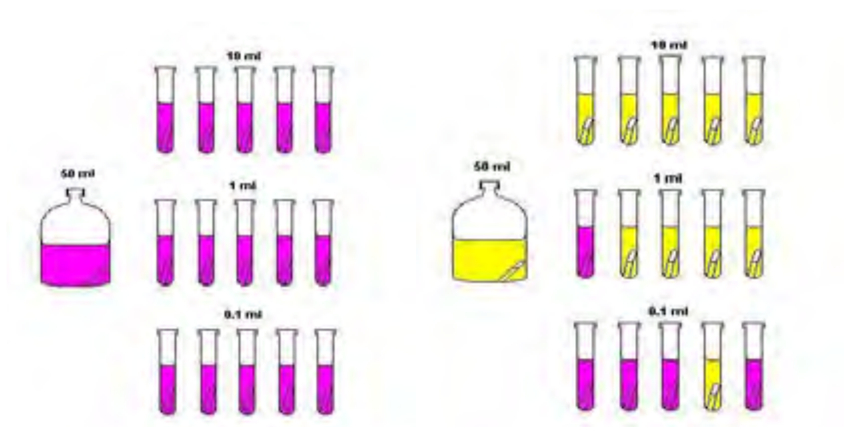
1) Sel mikroba tersebar merata dalam contoh dimana gaya tarik atau tolak diantara mikroba tidak terjadi
2) Larutan yang diinokulasi ke media akan memperlihatkan pertumbuhan positif apabila mengandung satu atau lebih mikroba hidup

3) Terhindar dari pencemaran yang berasal dari bahan dan peralatan.

Dari setiap pengenceran, masing-masing dimasukkan 1 ml masing-masing ke dalam tabung yang berisi medium, dimana untuk setiap pengenceran digunakan 3 atau 5 seri tabung. Setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu, dihitung jumlah tabung yang positif. Misalnya, pada pengenceran pertama 3 tabung menghasilkan pertumbuhan positif, pada pengenceran kedua menghasilkan 2 tabung yang positif, pada pengenceran ketiga menghasilkan 1 tabung positif, dan pada pengenceran terakhir tidak adatabung yang positif. Dari hasil tersebut didapatkan kombinasinya menjadi 3,2,1,0 dan jika diambil 3 pengenceran pertama kombinasinya menjadi 3,2,1. Angka kombinasi ini kemudian dicocokkan dengan tabel MPN. Kemudian nilai MPN tersebut dihitung dengan rumus sebagai berikut:

MPN sampel = Nilai MPN dari tabel x 1/pengenceran tabung tengah

Tabel yang digunakan untuk menentukan nilai MPN dari 3 seri tabung berbeda dengan tabel untuk 5 seri tabung.



Gambar 22. Metode MPN seri pengenceran 5 tabung

(ungu : media/tidak terkontaminasi *e coli*, kuning : terkontaminasi *e coli*)
Sumber:http://www.qmlive.leeds.ac.uk/q4/session.watermicrobiology

Output metode MPN adalah nilai MPN.Nilai MPN adalah perkiraan jumlah unit tumbuh (*growth unit*) atau unit pembentuk-koloni (*colony-forming unit*) dalam sampel.Namun, pada umumnya, nilai MPN juga diartikan sebagai perkiraan jumlah individu bakteri.Satuan yang digunakan, umumnya per 100 mL atau per gram.Jadi misalnya terdapat nilai MPN 10/g dalam sebuah sampel air, artinya dalam sampel air tersebut diperkirakan setidaknya mengandung 10 coliform pada setiap gramnya.Makin kecil nilai MPN, maka air tersebut makin tinggi kualitasnya, dan makin layak minum. Metode MPN memiliki limit kepercayaan 95 persen sehingga pada setiap nilai MPN, terdapat jangkauan nilai MPN terendah dan nilai MPN tertinggi (FDA, 1989).

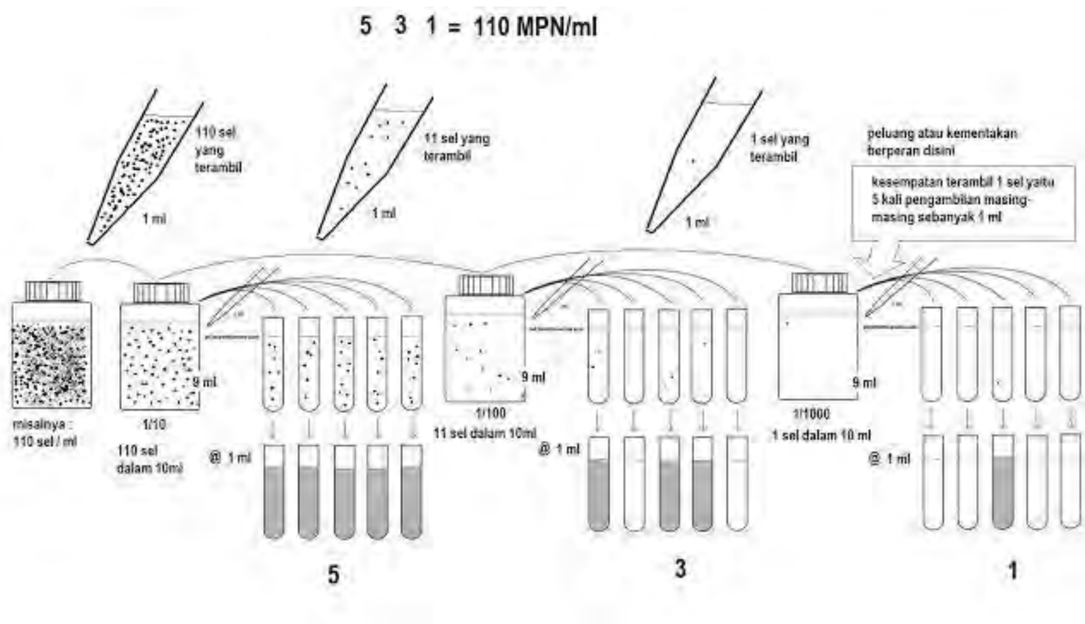
Tabel 1. Daftar MPN coliform (menggunakan 3 tabung)

Kombinasi/Jumlah tabung yang positif			MPN per gram/ml
1 : 10	1 : 100	1 : 1000	
0	0	0	< 3
0	0	1	3
0	1	0	3
1	0	0	4
1	0	1	7
1	1	0	7
1	1	1	11
1	2	0	11
2	0	0	9
2	0	1	14
2	1	0	15
2	1	1	20
2	2	0	21
2	2	1	28
3	0	0	23
3	0	1	39
3	0	2	64
3	1	0	43
3	1	1	75
3	1	2	120
3	2	0	93
3	2	1	150
3	2	2	210

3	3	0	240
3	3	1	460
3	3	2	1 100
3	3	3	>2 400

Tabel 2. Daftar MPN Coliform menggunakan 5 tabung

Kombinasi/Jumlah tabung positif	MPN/100 ml	Kombinasi/Jumlah tabung positif	MPN/100 ml
0-0-0	< 2	4-2-0	22
0-0-1	2	4-2-1	26
0-1-0	2	4-3-0	27
0-2-0	4	4-3-1	33
		4-4-0	34
1-0-0	2		
1-0-1	4	5-0-0	23
1-1-0	4	5-0-1	30
1-1-1	6	5-0-2	40
1-2-0	6	5-1-0	30
		5-1-1	50
2-0-0	4	5-1-2	60
2-0-1	7		
2-1-0	7	5-2-0	50
2-1-1	9	5-2-1	70
2-2-0	9	5-2-2	90
2-3-0	12	5-3-0	80
		5-3-1	110
3-0-0	8	5-3-2	140
3-0-1	11		
3-1-0	11	5-3-3	170
3-1-1	14	5-4-0	130
3-2-0	14	5-4-1	170
3-2-1	17	5-4-2	220
		5-4-3	280
4-0-0	13	5-4-4	350
4-0-1	17		
4-1-0	17	5-5-0	240
4-1-1	21	5-5-1	300
4-1-2	26	5-5-2	500
		5-5-3	900
		5-5-4	1600
		5-5-5	1600



Contoh soal:
Dari gambar diatas, berpakah nilai MPN coliform/100 ml?
Kombinasi atau jumlah tabung yang positif adalah 5-3-1.Beapakah jumlah coliform dalam 100 ml sampel?
Jawab :
Nilai dalam tabel MPN untuk untuk kombinasi 5-3-1 adalah 110
Nilai MPN = Nilai MPN dari tabel x 1/pengenceran tabung tengah

$= 110 \text{ x } 1/10^{-3}$

$= 110000$

Maka nilai MPN coliform/100 ml adalah 110000 MPN/ml

Dengan menggunakan metode MPN ini, kita mendapat beberapa keuntungan antara lain:

1) Dapat dibuat sangat peka dengan penggunaan contoh lebih besar dari 1 ml/tabung
2) Dapat digunakan di lapangan karena media dapat disiapkan sebelumnya
3) Untuk tujuan tertentu dapat menggunakan media pertumbuhan selektif sehingga hanya mikroba yang diharapkan dapat tumbuh baik

Kelemahan utama dari metode MPN adalah membutuhkan waktu dan biaya yang cukup besar untuk persiapannya karena pada prosedur kerjanya membutuhkan ulangan yang cukup banyak, dapat dilanjutkan dengan melakukan uji biokomia yaitu uji IMVIC.

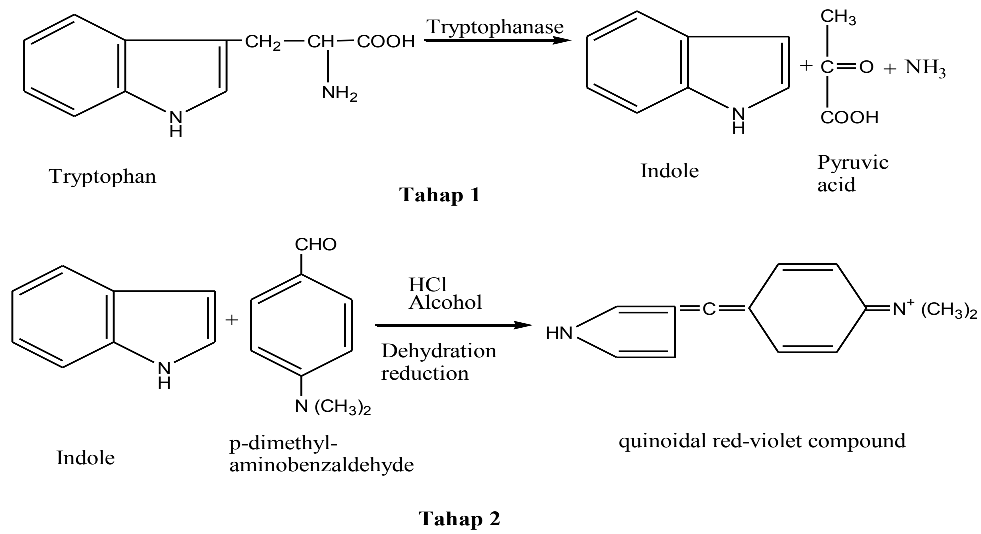
c. Identifikasi Escherichia coli Menggunakan Uji IMVIC (Indol Metil Voges-Proskauer Citrate)

Uji IMVIC terdiri dari uji indol, uji merah metil, uji *Voges-Proskauer*, dan uji sitrat.

1) Uji Indol

Uji IMVIC diawali dengan uji indol. Adanya Indol akan menyebabkan *amil alcohol* berubah warnanya menjadi merah tua .*E.coli* menghasilkan enzim *tryptofanase* yang mengkatalisasikan penguraian gugus Indol dari *tryptofan*. Dalam media biakan , Indol menumpuk sebagai produk buangan , sedangkan bagian lainnya dari molekul *tryptofan* (asam piruvat dan NH_4+) dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan zat hara mikroorganisme. Reagens bereaksi dengan indol dan menghasilkan senyawa yang tidak larut dalam air dan berwarna merah

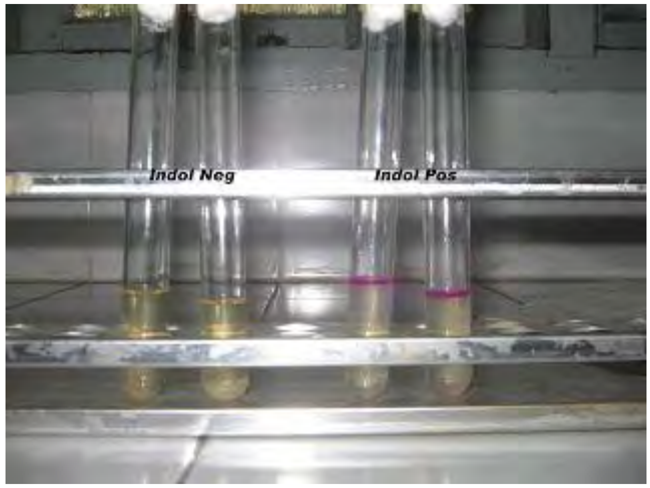
pada permukaan medium (Widyawati, 2012).Reaksi uji indol ini dapat digambarkan seperti dibawah ini.



Gambar 23. Reaksi Uji Indol

Prosedur kerja dalam uji indol menurut SNI 01-2897-1992 tentang Cara uji cemaran mikroba adalah sebagai berikut:

- Dari biakan murniyang ditumbuhkan pada agar, ambil satu lop biakan tersebut dengan jarum ose dan inokulasikan pada media *tryptone broth*,
- Inkubasi pada suhu 35^{0}C selama 18-24 jam
- Tambahkan 0,2 – 0,3 ml pereaksi indol kedalam masing-masing tabung dan kocok selama 10 menit.
- Perhatikan perubahan yang terjadi pada tabung reaksi



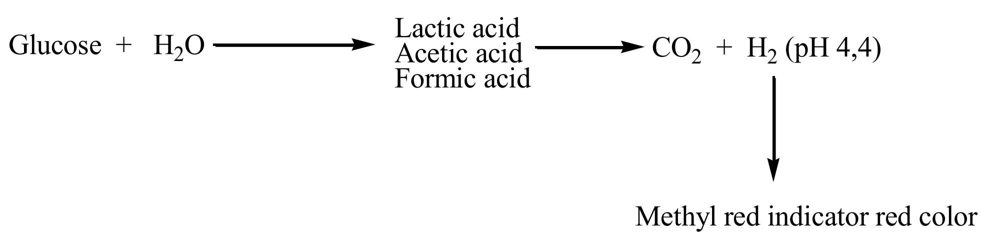
Gambar 24. Reaksi Indol pada Uji Imvic

Amati gambar diatas! Terlihat adanya perbedaan warna antara tabung positif dan tabung negatif. Carilah informasi apa yang menyebabkan perbedaan warna tersebut!

Uji Indol positif ditandai dengan terbentuknya cincin yang berwarna merah muda di permukaan biakan apabila ditambahkan beberapa tetes pereaksi indol yang terdiri dari *p-dimetilaminobenzaldehid, butanol*, dan asam. Uji ini menggunakan media *Tryptone Broth* yang mengandung substrat *triptofan*. Reaksi positif terjadi karena *triptofan* dikonversi menjadi indo

2) Uji Metil Red (MR)

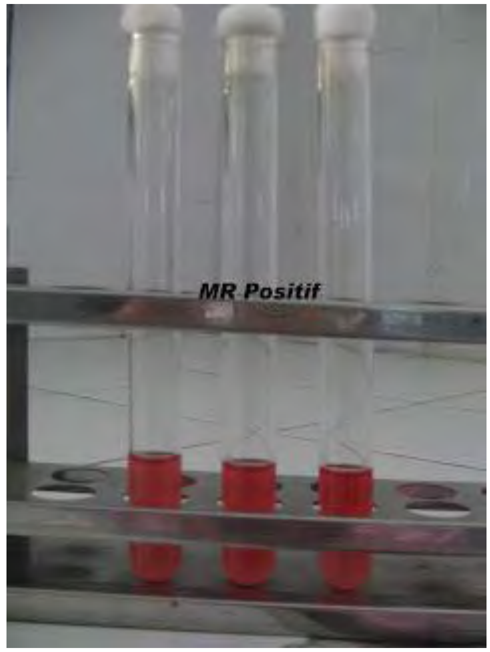
Tujuan dari uji MR ini adalah untuk membedakan antara organisme yang mampu mengubah glukosa menjadi piruvat. Uji ini akan mendeteksi bakteri menggunakan jalur asam campur, jika hasil akhir asam, maka tidak terjadi perubahan warna metil red (merah). Beberapa bakteri memfermentasi glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga akan menurunkan pH media pertumbuhan menjadi 5.0 atau lebih rendah. Penambahan indikator metil red dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam . Metil Red berwarna merah pada lingkungan dengan Ph 4.4 dan berwarna kuning dengan ph 6,2. Uji ini sangat berguna dalam identifikasi kelompok bacteri yang menempati saluran pencernaan. Reaksi yang terjadi pada uji metil red dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 25. Reaksi kimia uji Metil Red

Prosedur kerja dari uji metil red berdasarkanSNI 01-2897-1992 tentang Cara uji cemaran mikroba adalah sebagai berikut:

- Inokulasikan 1 lop bakteri dengan menggunakan jarum ose ke dalam perbenihan MR-VP
- Inkubasikan pada suhu 35^{0}C selama 48 jam
- Tambahkan 5 ml reagen *Methyl Red* kedalam tabung MR-VP kemudian Inkubasi lagi selama 72 jam jadi total masa inkubasi adalah 120 jam atau 5 hari .

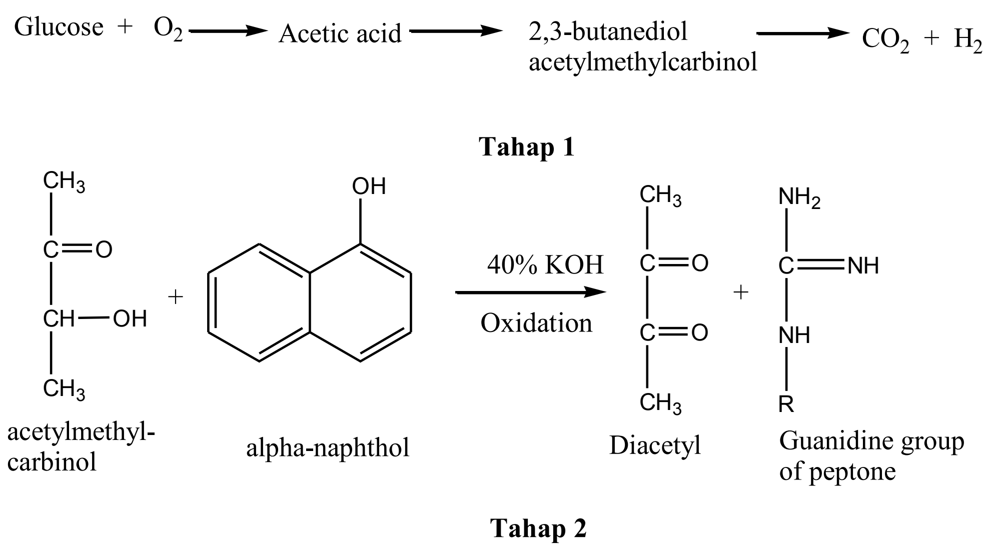


Gambar 26. Uji MR

Uji akan bersifat positif bila kaldu berwarna merah setelah penambahan reagens Methyl Red dan akan bersifat negatif bila kaldu MR-VP berubahan warna menjadi kuning atau jingga setelah penambahan reagens .

3) Uji VP (Voges Proskauer)

Uji *Voges Proskueur* digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang melakukan fermentasi dengan hasil akhir 2,3 butanadiol. Bila bakteri memfermentasikan karbohidrat menjadi 2,3 butanadiol sebagai produk utama, akan terjadi penumpukan bahan tersebut dalam media pertumbuhan. Pada uji ini dilakukan penambahan 40% KOH dan 5% larutan alphanaphtol pada saat pengamatan. Hal ini dapat menentukan adanya asetoin (asetil metil karbinol), suatu senyawa pemula dalam sintesis 2,3 butanadiol. Reaksi kimia uji VP dapat digambarkan seperti gambar dibawah ini:



Gambar 27. Reaksi Uji VP

Prosedur kerja dari uji metil red berdasarkanSNI 01-2897-1992 tentang Cara uji cemaran mikroba adalah sebagai berikut:

Bahan yang diperlukan

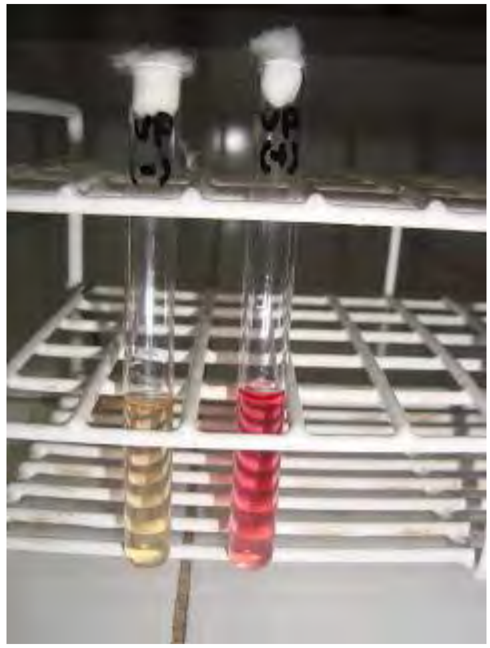
a. Kaldu MR-VP (Methyl Red – Voges Proskauer

b. Larutan 40% KOH

c. Larutan 5% alpha-naphtol

Cara Kerja

- Inokulasikan 1 *lop* biakan murni kedalam MRVP *Broth*.
- Inkubasikan selama 48 jam± 2 jam pada suhu 35^{o}C +1^{o}C.
- Pindahkan sebanyak 1 ml dari setiap MRVP *Broth* yang tumbuh ke tabung reaksi ukuran 13 mm x 100 mm steril dan tambahkan 0,6 ml larutan *alpha naphtol* dan 0,2 ml 40 % KOH
- Kocok dan diamkan selama 2-4 jam.



Gambar 28. Uji VP pada IMVIC Test

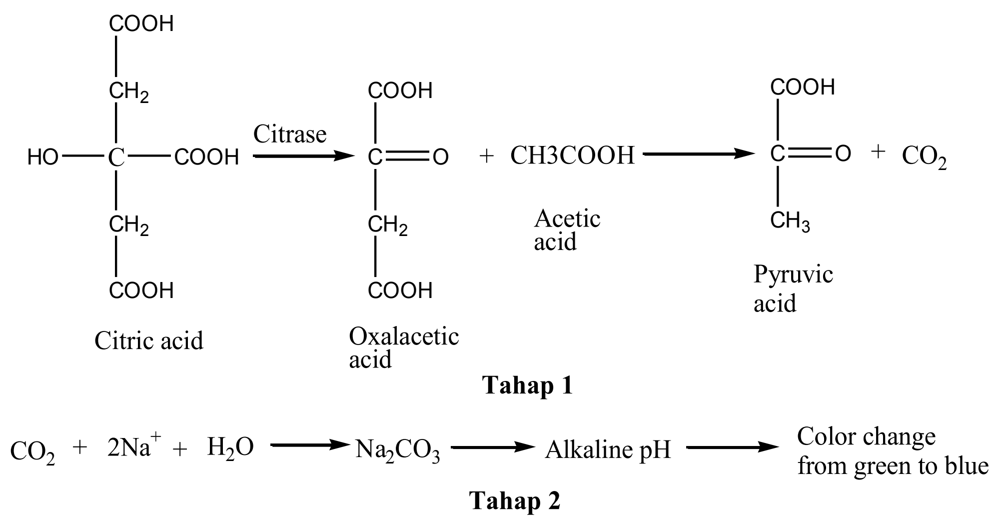
Uji positif jika terbentuk warna merah muda *eosin* sampai merah delima *(ruby)* seperti gambar dibawah ini. Uji bersifat Negatif bila kaldu MR-VP tidak memperlihatkan perubahan warna setelah penambahan reagens. Perubahan warna ini disebabkan oleh adanya asetoin. Perubahan warna ini diperjelas dengan penambahan larutan alpha naphtol. Perubahan warna medium biakan lebih jelas pada bagian yang berhubungan dengan udara karena 2,3 butanadiol dioksidasikan kembali menjadi asetoin sehingga memperjelas hasil reaksi.

4) Uji Sitrat

Uji sitrat digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu satunya sumber karbon dan energi. Untuk uji ini dapat digunakan medium sitrat -Koser , berupa medium cair , atau medium simon sitrat berupa medium padat. Simon Citrat Agar merupakan medium sintetik dengan Na sitrat sebagai satu satunya

sumber karbon, NH_4+ sebagai sumber N dan bromthymol blue sebagai indikator pH, sedangkan medium sitrat koser tidak mengandung indikator.

Bila mikroorganisme mampu menggunakan sitrat , maka asam akan perlahan menghilang dari medium biakan , sehingga menyebabkan peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru. Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa mikroorganisme mampu menggunakan sitrat sebagai satu satunya sumber karbon, sedangkan pada medium sitrat koser kemampuan menggunakan sitrat ditunjukkan oleh kekeruhan yang menandakan adanya pertumbuhan (Widyawati, 2012).



Gambar 29. Reaksi Kimia Uji Sitrat

Secara prosedur, uji sitrat adalah sebagai berikut:

Bahan yang diperlukan:

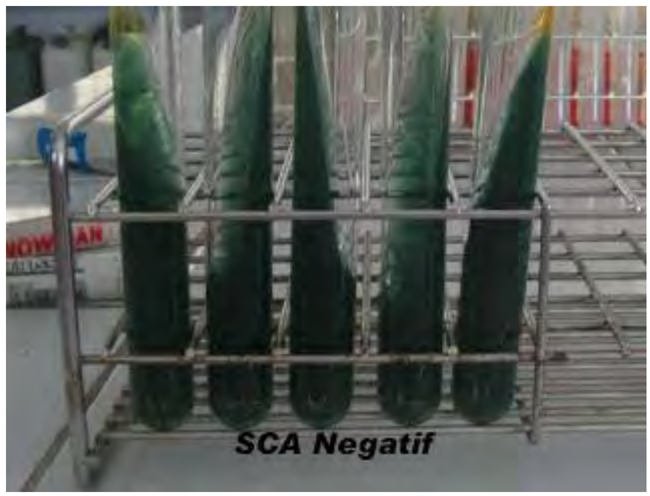
Biakan : Escherichia coli

Media biakan : Simmons citrate agar

Cara kerja:

1. Inokulasikan 1 lop biakan murni kedalam media Simmons Citrate.
2. Inkubasikan pada suhu 35^{0}C selama 48-96 jam.

Uji sitrat positif ditunjukkan oleh perubahan warna biakan dari hijau menjadi biru karena terbentuknya natrium karbonat hasil reaksi enzimatis yang mengubah indikator bromtimol biru pada media.



Gambar 30. Uji sitrat negatif

Escherichia coli dinyatakan positif apabila uji indol dan metil merah menunjukkan hasil positif, sedangkan uji *Voges-Proskauer* dan uji sitrat menunjukkan hasil negatif. Jika salah satu interpretasi hasil tidak sesuai maka biakan yang diuji dinyatakan tidak mengandung *Escherichia coli.*

Tabel 3. Sifat sifat bakteri Coliform dengan uji IMVIC

Indol	*Methyl red*	*Voges Proskauer*	Sitrat	Type
+	+	-	+	*Typical E. coli*
-	-	-	+	*Atypical E. coli*
+	+	-	-	*Typical intermediate*
-	+	-	-	*Atypical intermediate*
-	-	+	-	*Typical E. aerogenes*
a+	-	+	-	*Atypical E. aerogenes*

Sumber : SNI 01-2897-1992 tentang Cara Uji Cemaran Mikroba

Dari tabel diatas, dapat disimpulkan apakah biakan yang didapat *E coli* atau bukan. Biakan dapat dinyatakan sebagai E coli jika termasuk dalam *Typical E. coli* dan *Atypical E. coli*

Dari hasil membaca pemaparan diatas, buatlah kelompok diskusi dan diskusikan mengenai:

- Kelebihan dan kekurangan analisis pengujian E. Coli dengan metode MPN dan IMVIC
- Hubungan antara jumlah E. Coli dengan kulaitas produk

Hasil diskusi ini selanjutnya dipresentasikan didepan kelas

3. Tugas

a. Uji Kualitas Mikrobiologi Air Berdasarkan Nilai Most Probable Number (MPN) Coliform

Tujuan:

Praktikum ini bertujuan untuk mendeteksi adanya bakteri coliform dalam sampel air minum

Alat:

1. Botol contoh steril
2. Cawan Petri steril
3. Pipet ukur 10 ml dan 1 ml steril

4. Pembakar Bunsen
5. Inkubator
6. Mikroskop
7. Tabung reaksi
8. Tabung Durham
9. Vortex mixer
10. Timbangan, Mortal dan pengerus

Bahan:

1. Sampel air minum
2. Aquades steril
3. Media laktosa broth steril
4. Media Briliant Green Bile Lactose Broth)
5. Media EMB (Eosin Methylene Blue Agar) dan EA (sudah steril)
6. Alkohol
7. Kapas, karet, korek api

Langkah Kerja:

1. Uji Penduga

    a. Sediakan 100 ml sampel air minum yang akan diperiksa. Siapkan juga 3 buah tabung reaksi berisi 9 ml aquadessteril dan 9 buah tabung reaksi berisi tabung durham terbalik yang telah diisi 3 ml media Lactose Broth.
    b. Secara aseptic, inokulasikan 1 ml sampel air minum ke dalam tabung reaksi berisi 9 ml aquades steril lalu kocoklah tabung tersebut sehingga diperoleh pengenceran sebesar 10^{-1}.
    c. Lakukan pengenceran dengan cara yang sama sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3}.
    d. Siapkan 9 tabung rekasi berisi media Lactose Broth dengan kode $A_{1,}$ A_2, A_3, B_1, B_2, B_3, C_1, C_2, dan C_3. Masukkan 1 ml sampel dengan

pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung A_1, A_2, A_3. Masukkan 1 ml sampel dengan pengenceran 10^{-2} kedalam tabung B_1, B_2, dan B_3. Masukkan 1 ml sampel dengan pengenceran 10^3 kedalam tabung $C_{1,}$ C_2, dan C_3.

e. Inkubasi semua tabung reaksi pada suhu 37^0C selama 1 x 24 jam. Jika timbul gas dalam tabung durham, maka uji dilanjutkan ke uji penegasan. Jika tidak ada gas, inkubasi lagi selama 1 x 24 jam. Jika tetap tidak ditemukangas pada tabung durham, maka sampel air minum tersebut tidak perlu dilanjutkan karena tidak terdapat bakteri coliform didalam sampel tersebut.

2. Uji Penegasan

   a. Lakukan pros inokulasi air minum yang menghasilkan gas pada tes pendugaan. Cara kerja pada uji penegasan, sama seperti cara kerja pada uji penduga. Namun pada uji ini, media yang digunakan adalah BGLBB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*).
   b. Inkubasi semua tabung dalam incubator pada suhu 44^0C selama 1 x 24 jam. Jika terdapat gas pada tabung durham, berarti dalam sampel air minum ini mengandung bakteri Coliform fekal. Jika tidak ditemukan gas dalam tabung durham, lanjutkan inkubasi sampai 2 x 24 jam. Untuk mengetahui nilai MPN bakteri coliform yang terkandung dalam sampel air minum tersebut, kita dapat menghitungnya menggunakan rumus dan table MPN. Selain itu, tabung yang positif coliform fekal kita gores dalam media EMBA di uji kepastian.

3. Uji Kepastian

   a. Ambillah 1 ml sampel air minum yang positif coliform pada pengenceran 10^{-1}, 10^{-2}, dan 10^{-3}. Lalu ambil satu lop biakan tersebut dan goreskan pada media EMBA menggunakan jarum ose.
   b. Inkubasi pada suhu 37^0 Cselama 1 x 24 jam atau 2 x 24 jam.
   c. Perhatikan koloni bakteri yang tumbuh pada pemukaan medium

b. Identifikasi Bakteri Coliform Secara Biokimia Menggunakan Uji IMVIC

1. Uji Indol

Bahan : Biakan murni Escherichia coli dalam media agar miring NA

Alat :

- Pembakar Bunsen atau spirtus
- Jarum ose
- Tabung uji

Cara Kerja

a. Indol

- Dari biakan murni *e coli* dalam media agar miring NA, inokulasikan 1 lop biakan kedalam *tryptone broth*.
- Inkubasi pada suhu 36^0C selama 18-24 jam
- Tambahkan 0,2 -0,3 ml pereaksi indol kedalam masing-masing tabung dan kocok selama 10 menit.
- Akan muncul perubahan warna pada permukaan. Amati dan diskusikan dengan teman anda

b. Uji Metil Merah

- Dari biakan murni *e coli* dalam media agar miring NA, inokulasikan 1 lop biakan ke dalam perbenihan MR-VP.
- Inkubasikan suhu 35-37^0C selama 48 jam.
- Dengan menggunakan pipet, pindahkan 5 ml ke dalam tabung reaksi.
- Tambahkan 5 tetes metil merah ke dalam tabung reaksi tersebut dan kocok
- Amati perubahan warna yang terjadi dan diskusikan dengan teman anda

c. Uji VP (Voges Proskauer)

- Dari biakan murni *e coli* dalam media agar miring NA, inokulasikan 1 lop biakan ke dalam perbenihan MR-VP.
- Inkubasi pada suhu 37^0C selama 48 jam.
- Dengan menggunakan pipet, pindahkan 1 ml suspense kedalam tabung reaksi dan tambahkan 0,6 ml larutan alfa naftol dan 0,2 ml larutan kalium hidroksida, lalu kocok.
- Diamkan selama 2-4 jam, amati perubahan warna yang terjadi.

d. Uji Sitrat

- Dari biakan murni *e coli* dalam media agar miring NA, inokulasikan 1 lop biakan ke dalam perbenihan Simmons Citrate atau Koser's Citrate.
- Inkubasi pada suhu 35^0C selama 48-96 jam
- Amati perubahan warna yang terjadi

Dari pengujian IMVIC yng telah dilakukan diatas, amati dan diskusikanlah perubahan warna yang terjadi dan penyebab perubahan warna tersebut. Buatlah laporan dan presentasikan didepan kelas

4. Refleksi

Petunjuk

1. Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersebut!
2. Tuliskan jawaban pada pertanyaan pada lembar refleksi
3. Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?
   ....
   ....

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.
   ....
   ....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....

4. Apa yang akan anda lakuan setelah menyelesaikan pelajaran ini?
   ....
   ....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!
   ....
   ....

Lembar Pembelajaran

1. Jelaskan tentang berbagai media selektif yang digunakan untuk identifikasi *e coli*
2. Jelaskan perbedaan antara metode MPN dan metode IMVIC dalam identifikasi bakteri *e coli*
3. Jelaskan tahapan-tahapan identifikasi bakteri dengan metode MPN
4. Jelaskan tahan-tahapan identifikasi bakteri *e coli* dengan metode IMVIC
5. Jelaskan kelebihan dan kelemahan dari metode MPN dan metode IMVI

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>Sikap
2.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
Kriteria Terlampir</td></tr>
<tr><td>2.2 Mengom promikan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi</td><td>2. Rubrik Penilaian Diskusi</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td></td><td>Penilaian sikap</td><td><table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>2.3 Menyumbang pendapat tentang bahan baku atau media untuk pembuatan produk makanan/ minuman/ bahan industri</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
1.Mengetahui prinsip dan konsep identifikasi e coli
2. Mengetahui cara kerja metode MPN dan IMVIC dalam pemeriksaan e coli</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Jelaskan tentang berbagai media selektif yang digunakan untuk identifikasi e coli
2. Jelaskan perbedaan antara metode MPN dan metode IMVIC dalam identifikasi bakteri e coli
3. Jelaskan tahapan-tahapan identifikasi bakteri dengan metode MPN
4. Jelaskan tahan-tahapan identifikasi bakteri e coli dengan metode IMVIC
5. Jelaskan kelebihan dan kelemahan dari metode MPN dan metode IMVIC</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr>
<td>Keterampilan

1. Melakukan praktek identifikasi bakteri e coli dengan metode MPN dengan terampil dan cermat
2. Melakukan praktek identifikasi bakteri e coli dengan metode imvic
3. Mempresen-tasikan hasil didepan kelas</td>
<td>Non Tes (Tes Unjuk Kerja)</td>
<td></td>
<td>1. Rubrik Sikap Ilmiah
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
2. Rubrik Penilaian Prosedur pengolahan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara melakukan proses pengolahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
</td>
</tr>
</table>

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Menanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek menanya**:**

Skor 4 Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 3 Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesua dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 2 Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas

Skor 1 Tidak menanya

2. Aspek mengamati :

Skor 4 Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat

Skor 3 Terlibat dalam pengamatan

Skor 2 Berusaha terlibat dalam pengamatan

Skor 1 Diam tidak aktif

3.Aspek menalar

Skor 4 Jika nalarnya benar

Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar

Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah

Skor 1 Diam tidak menalar

4.Aspek mengolah data :

Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua

Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar

Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar

Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5.Aspek menyimpulkan **:**

Skor 4 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar

Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6.Aspek menyajikan

Skor 4 jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawabsemua pertanyaan dengan benar

Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab

Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat penuh :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat

Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek bertanya :

Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tdak bertanya

3. Aspek Menjawab :

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya

Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

4. Aspek Memberikan gagasan orisinil :

Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri

Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun

Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain

Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rublik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kritera :

1. Cara merangkai alat :

Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3: jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor : jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3 : jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4	Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas
Skor 3	Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas
Skor 2	Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik yang dibahas
Skor 1	Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

Skor 4	Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu
Skor 3	Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu
Skor 2	Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu
Skor 1	Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Hasil Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

Kegiatan pembelajaran 4. Pemeriksaan Salmonella padaBahan Pangan

A. Deskripsi

Uji Salmonella digunakan untuk menetapkan adanya*Salmonella* dalam makanan. *Salmonella* merupakan bakteri gram-negatif berbentuk tongkat yang menyebabkan tifus, paratifus, dan penyakit *foodborne*. *Salmonella* terdiri dari sekitar 2500 serotipe yang kesemuanya diketahui bersifat pathogen baik pada manusia atau hewan.

Bakteri ini bukan merupakan indikator sanitasi, melainkan bakteri indikator keamanan pangan . Artinya, karena semua serotipe *Salmonella* yang diketahui di dunia ini bersifat patogen maka adanya bakteri ini dalam makanan dianggap membahayakan kesehatan. Oleh karena itu berbagai standar makanan siap santap mensyaratkan tidak ada *Salmonella* dalam 25 gram sampel makanan.

B. Kegiatan Belajar

1. Tujuan Pembelajaran

Setelah melakukan kegiatan belajar ini, diharapkan siswa dapat:

a. Menerapkan konsep dan prinsip cara pelaporan hasil pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan
b. Melakukan pemeriksaan *Salmonella* pada bahan pangan

2. Uraian Materi

a. Salmonella

Salmonella merupakan salah satu bakteri yang sering menyebabkan penyakit yang serius apabila mencemari makanan maupun minuman yang dikonsumsi manusia. *Salmonella* juga dapat hidup pada tubuh makhluk

hidup yang berdarah dingin maupun berdarah panas. Bakteri ini bukan indikator sanitasi, melainkan bakteri indikator keamanan pangan . Artinya, karena semua serotipe *Salmonella*yang diketahui di dunia ini bersifat patogen maka adanya bakteri ini dalam makanan dianggap membahayakan kesehatan. Oleh karena itu berbagai standar makanan siap santap mensyaratkan tidak ada *Salmonella*dalam 25 gram sampel makanan.

Secara morfologi, bakteri *Salmonella* mempunyai karakteristik gram negatif, berbentuk batangdiameter 0,7 – 1,5 µm, memiliki panjang 2 – 5 µm, tidak membentuk spora, dan bersifat aerob/fakultatif aerob.*Salmonella* memiliki kekerabatan yang dekat dengan bakteri genus *Escherichia* dan dapat dijumpai hampir di seluruh dunia.

Berikut adalah klasifikasi dari Bakteri *Salmonella*:

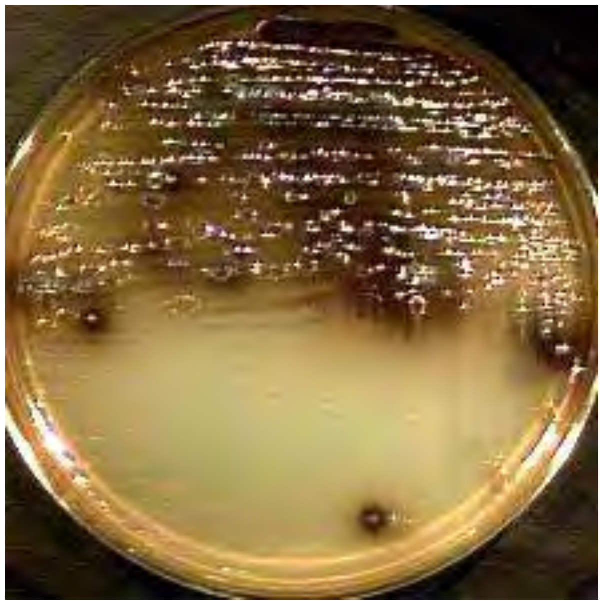
Phylum/Divisi	:	Protophyta
Kelas	:	Schizomycetes
Ordo	:	Enterobacteriales
Keluarga	:	Enterobacteriaceae
Genus	:	*Salmonella*
Species	:	*S. enterica*

Salmonella dapat memfermentasi glukosa dengan membentuk asam atau gas dan dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit. *Salmonella* mudah tumbuh pada kebanyakan media. Namun ada empat jenis media spesifik yang digunakan untuk memilah *Salmonella* dari mikroba lainnya,yaitu :

1) Media agar Bismuth Sulfite

Media ini merupakan media yang sangat spesifik untuk isolasi Salmonella typhii dan spesies lain. Adanya *bismuth sulfite* dan *brilliant green* dapat menghambat pertumbuhan gram positif dan koliform. Adanya Sulfit dalam media akan diubah menjadi H_2S yang berperan

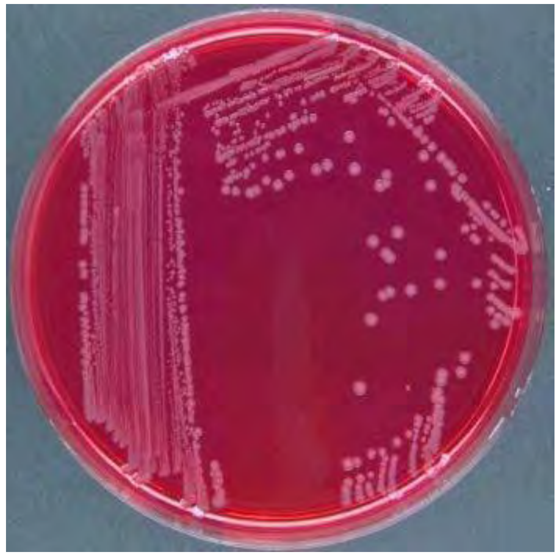
dalam mengendapkan besi, sehingga koloni berwarna coklat hitam dengan kilap logam. Media ini sangat cocok digunakan pada tahap awal untuk memilahkan *Salmonella* dari mikroba lain. Sedangkan mikroba lain yang tumbuh terutama Pseudomonas dapat dipilah dengan media lain.



Gambar 31. *Salmonella typhii* dalam media *Bismuth Sulfit* Agar

2) Media Brilliant Green Agar

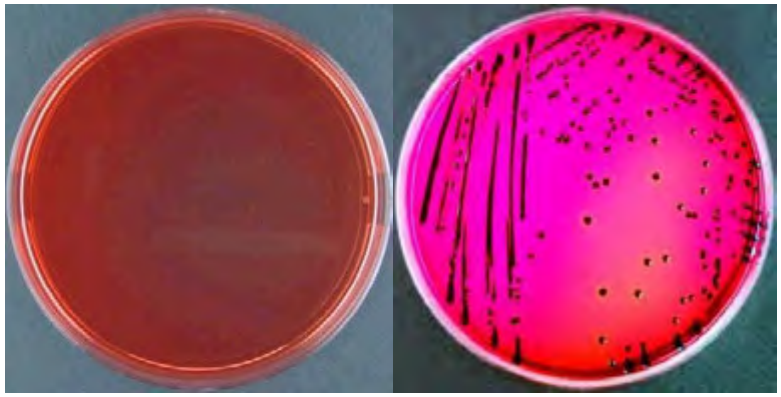
Media ini mengandung *brillian green* yang sangat baik untuk menghambatpertumbuhan *e coli* dan bakteri yang memfermentasi sukrosa dan laktosa. Garam empedu berperan menghambat bakteri untuk batang gram negatif. Media ini sangat selektif untuk isolasi *Salmonella* sp. *Salmonellatyphii* akan berwarna merah dikelilingi zona merah. Bakteri lain yang akan menyerupai *Salmonella* adalah bakteri Pseudomonas. Untuk menetapkan apakah itu *Salmonella* atau Pseudomonas, diperlukan konfirmasi dengan media lain.



Gambar 32. *Salmonella typhii* dalam media *Brillian Green Agar*

3) Media Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar

Media ini digunakan untuk isolasi *Salmonella* dan memilah organisme lain dengan cara memfermentasi xylose, dekarboksilasi lysine dan produksi H_2S. fermentasi xylose sangat lazim bagi kebanyakan organisme enteric kecuali Shigella, Provindencia, dan Edwardsiella. Pada media ini, *Salmonella* akan membentuk koloni merah dengan inti hitam, sedangkan Pseudomonas tumbuh dengan warna merah dan Eschericia berwarna kuning. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain Arizona, Proteus, Aerobacter, Klebsiella, dan Citrobacter. Namun, media ini kurang tepat jika digunakan pada tahap awal identifikasi Salmonela, sehingga media ini lebih baik digunakan untuk tahap konfirmasi kontaminan Salmonella.



Gambar 33. Media *Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar* (kiri) dan Media *Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar* yang ditumbuhi Salmonella

4) Triple Sugar Iron Agar

Triple Sugar Iron Agar merupakan media diferensial yang terdiri dari laktosa, sukrosa, dekstrosa, fero sulfat, dan indicator pH phenol red. Media ini digunakan untuk memilah mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi sulfur dan memfermentasi karbohidrat. Dengan adanya fermentasi phenol red, jika mikroorganisme tidak dapat memfermentasi ketiga jenis gula (sukrosa, laktosa, glukosa) yang ada dalam media, maka media akan berubah menjadi warna kuning. Jika mikroorganisme hanya dapat memfermentasi dekstrosa, sebagian kecil dekstrosa yang tersisa dalam media digunakan oleh mikroorganisme dalam 10 jam pertama proses inkubasi. Terjadinya fermentasi dekstrosa oleh *Salmonella* akan menurunkan pH menjadi asam. Kondisi ini akan menyebabkan perubahan phenol red (media merah) menjadi kuning.



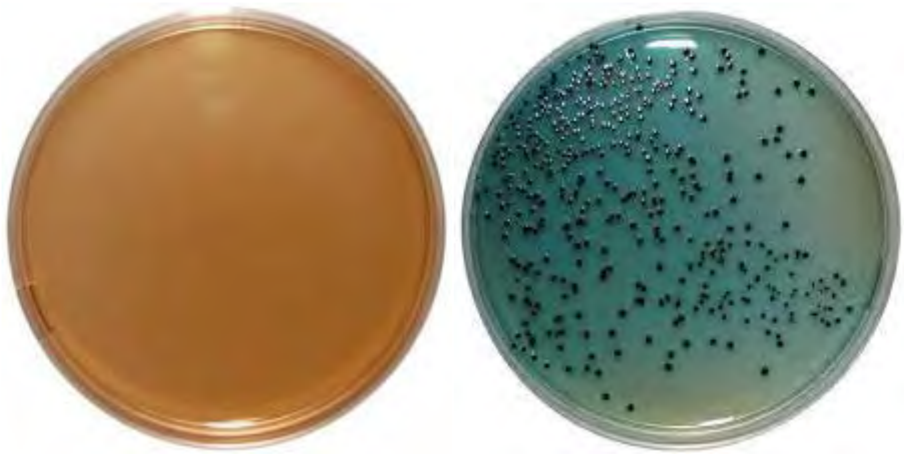
Gambar 34. ***Salmonella Typhimurium*** **dalam Media TSIA**

http://www.austincc.edu/microbugz/triple_sugar_iron_agar.php

5) *Hektoen Enteric Agar* merupakan media selektif diferensial.

Media ini terdiri dari *bile salt agar* yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, sehingga diharapkan hanya *Salmonella* yang tumbuh pada media ini. Media ini juga digolongkan sebagai media diferensial karena dapat membedakan bakteri Salmonella dengan bakteri lainnya dengan cara memberikan tiga jenis karbohidrat pada media, yaitu laktosa dengan komposisi tertinggi, glukosa, dan salisin. Salmonella tidak dapat memfermentasi laktosa sehingga asam yang dihasilkan sedikit karena fermentasi hanya berasal

dari glukosa. Hal ini yang menyebabkan Salmonella berwarna hijau kebiruan karena asam yang dihasilkan bereaksi dengan indicator yang ada pada media yaitu fuksin asam dan bromtimol blue.

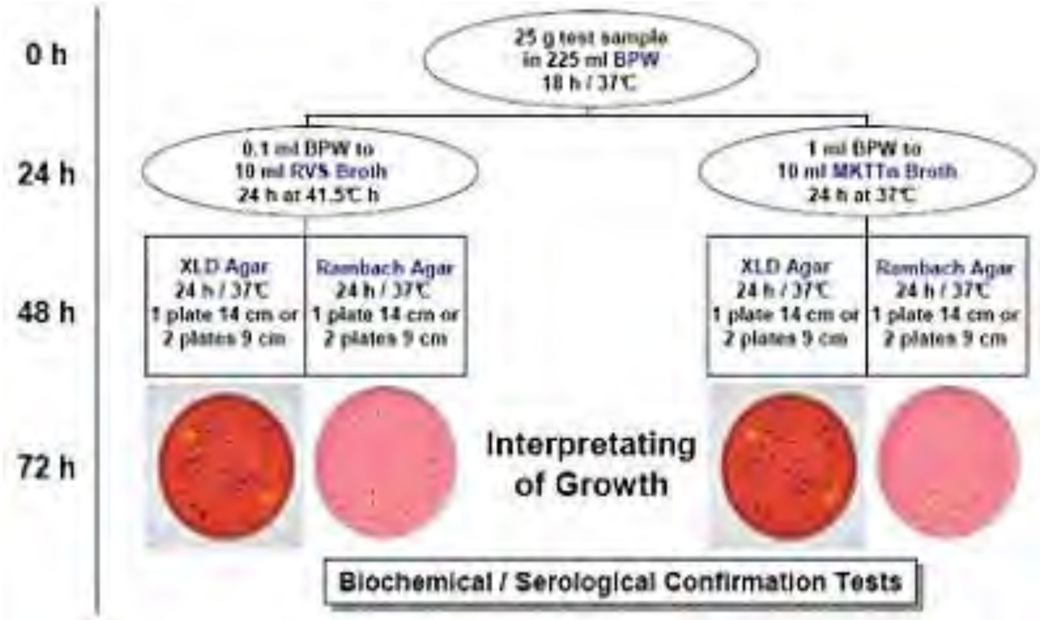


Gambar 35. Media *Hektoen Enteric Agar* (kiri) dan Salmonella dalam media *Hektoen Enteric Agar*

Pada gambar tersebut dapat kita lihat bahwa media yang ditumbuhi Salmonella terdapat titik hita pada koloni bening Salmonella. Titik hitam tersebut merupakan hasil dari fermentasi karbohidrat berupa H_2S. Seluruh spesies akan menunjukkan hasil yang serupa kecuali Salmonella typhii yang memproduksi H_2S dalam jumlah yang sedikit.

b. Prosedur Uji Salmonella

Untuk melakukan deteksi cemaran *Salmonella* pada produk makanan, ada beberapa metoda yang direkomendasikan untuk digunakan oleh industri maupun laboratorium analisa lainnya. Salah satunya adalah metoda yang diterbitkan oleh Badan Standarisasi Internasional, yaitu **Standar ISO 6579 : 2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp**.



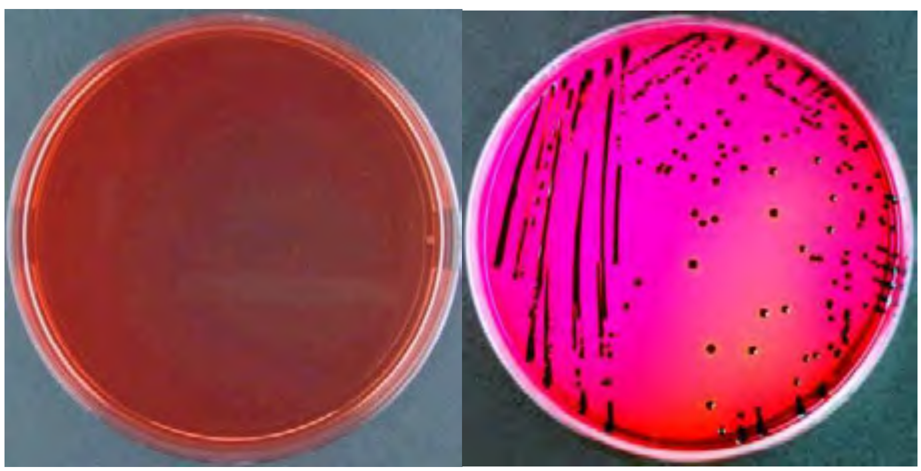
Gambar 36. Metoda ISO 6579:2002 untuk Deteksi *Salmonella*

Sumber.http://www.merckmillipore.co.id/chemicals/analisis-bakteri salmonella-menggunakan-media-kultur-bismuth-sulphite-agar/c_.hWb.s1O7pYAAAEkiloksZ5a

Dalam metoda ISO 6579 : 2002 ini terdiri dalam tiga tahapan, tahap pertama adalah *pre-enrichment*, tahap kedua adalah *selective enrichment*, dan tahap ketiga adalah isolasi pada media agar selektif. Tahap *pre-enrichment* menggunakan media kultur cair yaitu *Buffered Peptone Water* (BPW). *Pre-enrichment* pada media kultur cair berfungsi untuk memperbaiki kondisi bakteri yang *injured.*Tahapan kedua adalah melakukan *selective enrichment* pada 2 jenis media kultur cair, yaitu *Rappaport Vassiliadis Salmonella Enrichment Broth* (RVS) dan *Muller Kaufman Tetrathionate Novobiocin Broth*. Pada tahapan *selective enrichment* ini terjadi optimalisasi pertumbuhan *Salmonella* dan dihambatnya pertumbuhan bakteri-bakteri penyerta lainnya yang dapat menggangu pertumbuhan *Salmonella*, sehingga dapat semakin meminimalkan hasil *false* negatif. Tahap ini menggunakan 2 jenis media selektif yang bertujuan untuk memaksimalkan pertumbuhan dari berbagai

spesies *Salmonella* yang mungkin terdapat pada sampel. Sebab, terkadang beberapa jenis spesies *Salmonella* dapat tumbuh baik pada media kultur RVS namun tidak dapat tumbuh pada MKTTn, maupun sebaliknya.

Tahapan ketiga adalah melakukan isolasi atau plating pada media agar selektif yaitu *XLD agar*dan *Rambach Agar*dengan metoda streak/gores menggunakan jarumose. Pada media XLD agar, Salmonella akan menggunakan kandungan xylose, laktosa, dan sukrosa menjadi zat asam yang menyebabkan phenol red berubah menjadi kekuningan atau oranye. Salmonella juga akan menghasilkan hydrogen sulfit sebagai hasil dari pemanfaatan thiosulfate dan garam besi (III) yang menyebabkan koloni Salmonella berwarna hitam.

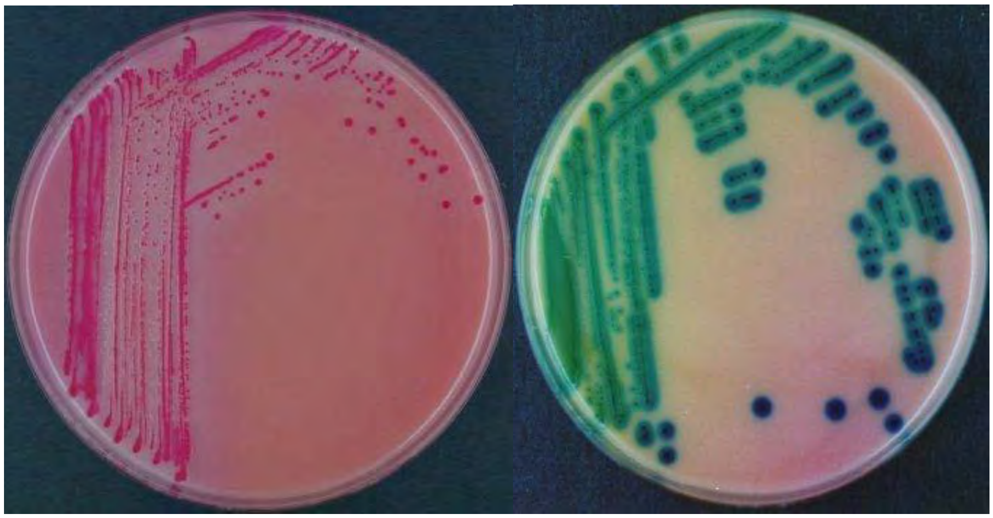


Gambar 37. XLD agar (kiri) dan Koloni *Salmonella* dalam XLD agar (kanan)

Sumber.http://pictures.life.ku.dk/atlas/microatlas/veterinary/plating_media/XLD

Pada media Rambach Agar, *Salmonella* akan tumbuh dan tampak sebagai koloni berwarna merah. Hal ini disebabkan oleh pemanfaatan *propylene glycol* dan reaksinya dengan pH indikator yang menghasilkan warna merah. Media *Rambach Agar* mengandung substrat *chromogenic* untuk mendeteksi aktifitas pemecahan *β-galactosidase* oleh *Coliform, sehingga dapat dibedakan antara Salmonella dengan bakteri Coliform lainnya*.

Pertumbuhan *coliform* pada media Rambach Agar akan tampak sebagai koloni yang berwarna kehijauan atau biru-violet. Sedangkan bakteri dari kelompok Gram-negatif lainnya akan tampak sebagai koloni yang tak berwarna, misalnya *Proteus* dan *Shigella*.



Gambar 38. Koloni Salmonella pada Rambach agar (kiri) dan koloni e coli pada rambach agar (kanan)

Contoh lain dalam pengujian Salmonella adalah identifikasi Salmonella pada sampel mayonnaise pada (SNI 01-4473-1998) dengan syarat negative jika jumlah koloni 25 gr.

Prosedur pengujian deteksi *Salmonella*sesuai dengan SN-01-2332.2-2006 tentang Tahap-Tahap Uji *Salmonella*. Tahap uji ini terbagi menjadi beberapa tahap, yaitu

1) Pra-Pengkayaan

Metode ini diawali dengan pengambilan sampel seberat 25 gr atau 225 ml dengan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan media pengkayaan (lactose broth). Selanjutnya contoh yang akan diuji dimasukkan ke dalam wadah plastik yang telah disterilkan dan ditambahkan 225 ml larutan Lactose Broth (LB). Selanjutkan homogenkan sampel selama 2

menit untuk dianalisa. Secara aseptis, pindahkan larutan contoh dalam wadah steril yang sesuai. Inkubasi 24 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C. Lanjutkan pengujian sesuai dengan prosedur.



Gambar 39. Sebelum dan Sesudah Proses Pra-Pengkayaan

Silahkan anda amati gambar proses sebelum dan sesudah proses pengkayaan. Diskusikanlah dengan teman kelompok anda, apa yang menyebabkan perubahan warna. Reaksi apa yang terjadi pada proses tersebut.

2) Tahap Pengkayaan

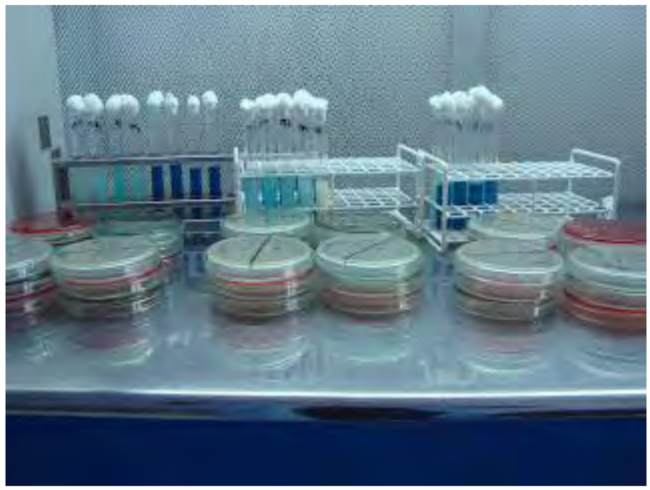
Tahap pengkayaan diawali dengan mengencangkan tutup wadah dan mengkocok perlahan contoh yang diinkubasi. Untuk produk perikanan dengan tingkat kontaminasi tinggi, Selanjutnya pindahkan 0,1 ml larutan contoh ke dalam 10 ml *Rappaport-Vassiliadis* (RV) *medium* dan 1 ml larutan contoh ke dalam 10 ml *Tetrathionate Broth* (TTB); Untuk jenis produk perikanan lain, pindahkan 1 ml larutan contoh ke dalam masing-masing 10 ml SCB dan 10 ml TTB

Inkubasi media pengkayaan selektif sebagai berikut:

inkubasi pada RV *medium* selama 24 jam± 2 jam pada suhu 42°C ± 0,2°C (*Water* bath);

Inkubasi pada TTB selama 24 jam ± 2 jampada suhu 43°C ± 0,2°C (*Water* bath);

inkubasi pada TTB dan SCB selama 24 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C (Inkubator).



Gambar 40. Isolasi bakteri dari media pra-pengkayaan ke media pengkayaan

3) Tahap Inkubasi

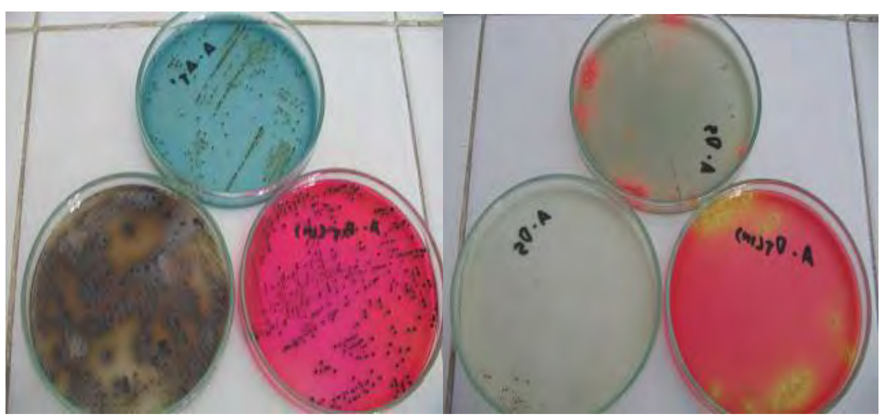
Tahap ini diawali dengan mengocok tabung (dengan vortex) dan dengan mengggunakan jarum ose (3mm) gores TTB yang diinkubasi ke dalam media HE, XLD dan BSA. Siapkan BSA sehari sebelum digunakan dan simpan di tempat gelap pada suhu ruang. Gores ke dalam media yang sama dari RV *Broth* atau SCB. Inkubasi cawan BSA, HE dan XLD selama 24 jam pada suhu 35°C ± 1°C. Amati kemungkinan adanya koloni *Salmonella.*

4) Pengamatan Morfologi *Salmonella*

Pengamatan morfologi Salmonella dilakukan dengan mengambil 2 atau lebih koloni *Salmonella* dari masing-masing media *Agar* selektif setelah

24 jam± 2 jam inkubasi. Koloni-koloni *Salmonella* yang khas *(typical)* adalah sebagai berikut:

- Pada Hectoen Enteri (HE) Agar. Koloni hijau kebiruan sampai biru dengan atau tanpa inti hitam. Umumnya kultur *Salmonella*membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni terlihat berwarna hitam.
- Pada XLD Agar. Koloni merah jambu (pink) dengan atau tanpa inti hitam. Umumnya kultur *Salmonella*membentuk koloni besar, inti hitam mengkilat atau hampir seluruh koloni terlihat berwarna hitam.
- Pada Bismuth Sulphite Agar (BSA). Koloni coklat, abu-abu atau hitam; kadang-kadang metalik. Biasanya media di sekitar koloni pada awalnya berwarna coklat, kemudian berubah menjadi hitam (*haloeffect*) dengan makin lamanya waktu inkubasi.



Gambar 41. Koloni positif pada media selektif HE (atas), BSA (kiri), dan XLD (kanan) (gambar kanan) dan koloni negatif pada media yang sama (gambar kiri)

Metode lain dalam pengujian adalah dengan uji biokimiadan uji serologi. Dalam pengujian ini dibuat kontrol positif yaitu sampel yang telah diberi biakan kultur *Salmonella* sebagai pembanding. Dari

pengkayaan selektif, biakan dari MKTTn dan RVS diinokulasikan pada media BGA dan XLD untuk tahap inokulasi dan identifikasi. Pada tahap ini hanya biakan dari BGA yang berasal dari MKTTn yang menunjukkan pertumbuhan koloni. Sedangkan pada media XLD tidak ada pertumbuhan koloni. Selanjutnya koloni dari biakan BGA dilakukan uji identifikasi yaitu uji biokimia dan uji serologi. Uji biokimia yang dilakukan antar lain sebagai berikut :

a. Uji TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Uji *Triple Sugar Iron agar* (TSIA) merupakan metode yang digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Media yang diguanakan dalam uji TSIA ini adalah TSIA agar yang mengandung 3 macam gula, yaitu glukosa 0,1%, laktosa 0,1%, dan sukrosa 0,1%. Selain itu, juga terdapat indicator fenol merah yang menyebabkan perubahan warna dari merah orange menjadi kuning dalam suasana asam. TSIA juga mengandung natrium trisulfat, yaitu suatu substrat untuk penghasil H^2S, ferro sulfat menghasilkan FeS (precipitat), bewarna hitam untuk membedakan bakteri H^2S dengan bakteri-bakteri lainnya.Konsentrasi glukosa adalah 1/10 dari konsentrasi laktosa atau sukrosa agar fermentasi glukosa saja yang terlihat

Pada uji TSIA warna media berubah menjadi merah karena bakteri bersifat basa Perubahan warna media ini menandakan bahwa bakteri ini tidak memfermentasi laktosa dan sukrosa. Pada media daerah butt media berubah berwarna kuning ini menandakan bakteri memfermentasi glukosa. Pembentukan gas positif ini hasil dari fermentasi H^2 dan CO^2 dapat dilihat dari pecahnya dan terangkatnya agar. Pembentukan H2S positif ditandai dengan adanya endapan berwarna hitam.

b. Uji urease

Uji urease digunakan untuk mengetahui kemampuan mikroba menghidrolisis urea menjadi amonia. Uji ini menggunakan urease broth sebagai media diferensial yang dapat membedakan bakteri penghasil eksoenzim yaitu enzim yang berfungsi untuk menghidrolisa urea menjadi ammonia. Kandungan urease broth antara lain larutan buffer, urea, nutrient, serta indicator phenol red.

Uji urease menunjukkan hasil positif jika terjadi perubahan warna media dari kuning menjadi merah keunguan karena amoniak yang dihasilkan menyebabkan lingkungan menjadi basa. Hasil uji urease negatif jika tidak terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah keunguan.

c. Uji Dekarboksilasi Lysin

Uji Dekarboksilasi Lysin menggunakan media Xylose-Lysine-Desoxycholate. Agar medium digunakan untuk isolasi *Salmonella*danmemilah organisme lain dengan cara memfermentasi xylose, dekarboksilasi lysine dan produksi H2S. Fermentasi xylose sangat lazim bagi kebanyakan organisme enterik kecuali, *Shigella, Providencia,Edwardsiella*. Pada media ini, *Salmonella*akan membentuk koloni merah dengan inti hitam, sedang *Pseudomonas* dapat tumbuh dengan warna merah dan *Eschericia* berwarna kuning. Mikroba lain yang dapat tumbuh pada media ini antara lain *Arizona, Proteus, Aerobacter, Klebsiella,Citrobacter*. Begitu banyak mikroba yang dapat tumbuh, sehingga media ini kurang dapat memilah *Salmonella*pada tahap awal. Sehingga lebih baik digunakan untuk tahap konfirmasi kontaminan *Salmonella*.

d. Uji β-galaktosidase

Uji β-galaktosidase digunakan utuk identifikasi beberapa jenis bakteri seperti *Salmonella.* Enzim β-galaktosidase merupakan enzim yang dapat mengubah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Beberapa mikroorganisme seperti *E. coli*, dapat menggunakan laktosa sebagai sumber karbon. Selain laktosa, substrat alamiah dari enzim, adalah bahan yang sangat penting, ONPG (o-nitro-phenyl-β-D-galactopyranoside), dapat digunakan pula. B-galaktosidase dapat mengkatalisis ONPG menjadi galaktosa dan o-nitrofenol. ONPG tidak berwarna tetapi setelah hidrolisis menjadi o-nitrofenol, akan timbul warna kuning pada larutan yang alkali. beberapa jenis bakteri yang mampu melakukan fermentasi terhadap karbohidrat *Streptococcus, Lactobacillus, Zygomonas, Saccharomycetes, Escherichia, Enterobacter, Salmonella.*

e. Uji Indol

Uji Indol bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memecah asam amino triptofan. Media ini biasanya digunakan dalam indentifikasi yang cepat. Hasil uji indol yang diperoleh negatif karena tidak terbentuk lapisan (cincin) berwarna merah muda pada permukaan biakan, artinya bakteri ini tidak membentuk indol dari tryptopan sebagai sumber karbon, yang dapat diketahui dengan menambahkan larutan kovacs. Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang lazim terdapat pada protein, sehingga asam amino ini dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat penguraian protein.

f. Uji Voges Proskauer

Uji Voges Proskauer bertujuan untuk mengidentifikasi jenis bakteri Untuk membedakan bakteri *Escherichia coli* dengan *Enterobacteraerogenes*. Hasilnya uji ini negatif, karena tidak terbentuk warna merah pada medium setelah ditambahkan a-napthol dan KOH, artinya hasil akhir fermentasi bakteri ini bukan asetil metil karbinol (asetolin).

Selain uji biokimia, juga terdapat uji serologi untuk mengidentifikasi adanya Salmonella dalam banhan pangan. Dalam uji serologi tidak terjadi aglutinasi pada penambahan antisera polivalen O, H, dan Vi . Jika hasil dari uji biokimia dan uji serologi contoh atau sampel berbeda dengan hasil kontrol positif, maka koloni yang tumbuh dari biakan BGA pada contoh bukanlah *Salmonella,* sehingga hasil dari pengujian ini dapat dinyatakan sebagai negatif koloni/25 gr. Hasil ini telah memenuhi syarat seperti pada SNI 01-4473-1998 yang mensyaratkan cemaran *Salmonella*pada mayonnaise adalah negatif koloni/25 gr.

*Salmonella*positif jika pada uji biokimia yang dilakukan hasilnya sebagai berikut:

- TSIA : butt (+), slant (-), gas positif atau negatif dan H2S positif atau negatif.
- Hidrolisis urea : negatif
- Dekarbosilasi lysine : positif
- Reaksi voges proskauer : negatif
- Produksi indol : negatif
- Uji serologi: terjadi aglutinasi pada penambahan antisera polivalen O, H, dan Vi.

g. Uji Biokimia Tambahan

Uji biokimia tambahan dapat dilakukan jika pada biakan masih diragukan adanya *Salmonella* atau tidak. Tahapan uji biokimia tambahan adalah sebagai berikut:

a) Purple Lactose Broth

Pindahkan 1 *ose* dari TSI *Agar* miring yang telah diinkubasi selama 24 jam – 48 jam kedalam *phenol red lactose* atau *purple Lactose Broth*. Inkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C, tetapi amati setelah 24 jam.

Hasil dinyatakan positif jika terjadi pembentukan asam (media berubah kuning) dan ditemukan gas pada tabung durham. Selain itu jika hanya terjadi pembentukan asam saja, sudah dapat dinyatakan positif. Umumnya *Salmonella*memberikan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gas pada tabung *durham* dan warna merah (*phenol red* sebagai indikator) atau ungu (*bromcresol purple* sebagai indikator) pada seluruh media.

b) Purple Sucrose Broth

Pindahkan 1 *ose* dari TSI *Agar* miring yang telah diinkubasi selama 24 jam – 48 jam kedalam *Phenol red sucrose* atau *purple sucrose Broth*. Inkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C, tetapi amati setelah 24 jam.

Positif, apabila terjadi pembentukan asam (kuning) dan gas pada tabung *durham*. Apabila hanya terjadi pembentukan asam, maka dapat dinyatakan positif. Umumnya *Salmonella*memberikan hasil negatif, ditunjukkan dengan tidak terbentuknya gas pada tabung *durham* dan warna

merah (*phenol red* sebagai indikator) atau ungu (*bromcresol purple* sebagai indikator) pada seluruh media.

c. Medium MR-VP

Pindahkan 1 *ose* dari TSI *Agar* miring ke dalam media *MR-VP Broth* dan inkubasikan selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C.

d. Uji VP

Pindahkan 1 ml *MR-VP Broth* yang telah diinkubasi selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C ke dalam tabung reaksi steril dan inkubasikan kembali MR-VP *Broth* selama 48 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C untuk pengujian *Methyl Red*. Tambahkan 0,6 ml *Alpha Alphanaphtol* dan kocok. Tambahkan 0,2 ml larutan 40% KOH dan kocok kembali. Untuk mempercepat reaksi tambahkan sedikit Kristal kreatin, dan amati hasilnya setelah 4 jam. Perubahan warna menjadi merah muda *eosin* sampai merah mirah delima (*ruby*) pada media menunjukkan reaksi positif.Umumnya *Salmonella* memberikan reaksi VP negatif.

e. Uji MR

Tambahkan 5 tetes - 6 tetes indikator *Methyl Red* kedalam media MR - VP yang telah diinkubasi selama 96 jam. Amati hasilnya dengan segera. Umumnya *Salmonella*memberikan reaksi positif, ditandai dengan terjadinya difusi warna merah pada media. Terjadinya warna kuning menunjukkan reaksi negatif.

f. Simmon Citrat Agar

Pindahkan 1 *ose* dari TSI *Agar* miring kedalam media *Simmon Citrate Agar* miring dengan cara menggores agar miring dan menusuk agar tegak. Inkubasikan selama 96 jam ± 2 jam pada suhu 35°C ± 1°C.

Hasil dinyatakan positif apabila terjadi pertumbuhan yang biasanya diikuti dengan perubahan warnadari hijau menjadi biru. Umumnya *Salmonella* memberikan hasil *citrate* positif. Namun jika tidak ada atau sedikit sekali pertumbuhan dan tidak terjadi perubahan warna, maka hasil dinyatakan negatif.

Dari hasil berbagai prosedur uji Salmonella tersebut, lakukan salah satu metode pada uji diatas. Diskusikanlah hasilnya dengan teman kelompok anda dan presentasikan didalam kelas,

3. Tugas

Lembar Kerja 1

- Buatlah kelompok dalam kelas anda
- Carilah informasi atau berita tentang keracunan makanan yang terinfeksi *Salmonella* (3 berita)
- Rangkumlah dan Analisis informasi atau berita tersebut mengenai factor-faktor yang menyebabkan keracunan ters

4. Refleksi

Petunjuk

- Tuliskan nama dan KD yang telah anda selesaikan pada lembar tersebut!
- Tuliskan jawaban pertanyaan pada lembar refleksi
- Kumpulkan hasil refleksi pada guru anda

LEMBAR REFLEKSI

1. Bagaimana kesan anda setelah mengikuti pembelajaran ini?

   ....

   ....

2. Apakah anda telah menguasai seluruh materi pembelajaran ini? Jika ada materi yang belum dikuasai tulis materi apa saja.

   ....

   ....

3. Manfaat apa yang anda peroleh setelah menyelesaikan pelajaran ini?

   ....

   ....

4. Apa yang akan anda lakuan setelah menyelesaikan pelajaran ini?

   ....

   ....

5. Tuliskan secara ringkas apa yang telah anda pelajari pada kegiatan pembelajaran ini!

   ....

   ....

Lembar kerja 1.

Tugas

Teknik Dilusi (Pengenceran)

Alat dan Bahan:

1. Mikro pipet
2. Pembakar Bunsen
3. Tabung reaksi dan rak

5. Latihan Pembelajaran

1. Sebutkan ciri-ciri bakteri Salmonella
2. Jelaskan berbagai macam media yang digunakan dalam identifikasi bakteri Salmonella
3. Jelaskan cara kerja identifikasi Salmonella!
4. Bandingkan cara kerja uji identifikasi Salmonella pada buku teks. Carilah perbedaan dari masing-masing uji tersebut!

C. Penilaian

1. Penilaian Sikap

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>Sikap
2.1
• Menampilkan perilaku rasa ingin tahu dalam melakukan observasi
• Menampilkan perilaku obyektif dalam kegiatan observasi
• Menampilkan perilaku jujur dalam melaksanakan kegiatan observasi</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>1. Rubrik Penilaian Sikap
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table>
Kriteria Terlampir</td></tr>
<tr><td>2.2 Mengompromikan hasil observasi kelompok
• Menampilkan hasil kerja kelompok
• Melaporkan hasil diskusi kelompok</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>2. Rubrik Penilaian Diskusi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Terlibat penuh</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Bertanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menjawab</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Memberikan gagasan orisinil</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Kerja sama</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Tertib</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td>2.3 Menyumbang pendapat tentang cara uji Salmonella pada bahan pangan</td><td>Non Tes</td><td>Lembar Observasi Penilaian sikap</td><td>3. Rubrik Penilaian Presentasi
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Kejelasan Presentasi</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Pengetahuan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Penampilan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>Pengetahuan
1. Ciri dan morfologi Salmonella
2. Prinsip dan konsep identifikasi Salmonella
3. Barbagai cara identifikasi salmonella</td><td>Tes</td><td>Uraian</td><td>1. Sebutkan ciri-ciri bakteri Salmonella
2. Jelaskan berbagai macam media yang digunakan dalam identifikasi bakteri Salmonella
3. Jelaskan cara kerja identifikasi Salmonella!
4. Bandingkan cara kerja uji identifikasi Salmonella pada buku teks. Carilah perbedaan dari masing-masing uji tersebut</td></tr>
<tr><td>Keterampilan

1. Melakukan praktek identifikasi Salmonella pada bahan pangan</td><td>Non Tes (Tes Unjuk Kerja)</td><td></td><td>3. Rubrik Sikap Ilmiah
<table>
<tr><th rowspan="2">No</th><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaian</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>1</td><td>Menanya</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>2</td><td>Mengamati</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>3</td><td>Menalar</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>4</td><td>Mengolah data</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>5</td><td>Menyimpulkan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>6</td><td>Menyajikan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th rowspan="2">Indikator</th><th colspan="3">Penilaian</th></tr>
<tr><th>Teknik</th><th>Bentuk Instrumen</th><th>Butir Soal/Instrumen</th></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td>4. Rubrik Penilaian Prosedur pengolahan
<table>
<tr><th rowspan="2">Aspek</th><th colspan="4">Penilaiaan</th></tr>
<tr><th>4</th><th>3</th><th>2</th><th>1</th></tr>
<tr><td>Cara melakukan proses pengolahan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Cara menuliskan data hasil pengamatan</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
<tr><td>Kebersihan dan penataan alat</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr>
</table></td></tr>
</table>

Lampiran Rubrik & Kriteria Penilaian :

a. Rubrik Sikap Ilmiah

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Menanya				
2	Mengamati				
3	Menalar				
4	Mengolah data				
5	Menyimpulkan				
6	Menyajikan				

Kriteria

1. Aspek menanya **:**

Skor 4	Jika pertanyaan yang diajukan **sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas
Skor 3	Jika pertanyaan yang diajukan **cukup** sesuai dengan permasalahan yang sedang dibahas
Skor 2	Jika pertanyaan yang diajukan **kurang sesuai** dengan permasalahan yang sedang dibahas
Skor 1	Tidak bertanya

2. Aspek mengamati :

Skor 4	Terlibat dalam pengamatan dan aktif dalam memberikan pendapat
Skor 3	Terlibat dalam pengamatan
Skor 2	Berusaha terlibat dalam pengamatan
Skor 1	Diam tidak aktif

3. Aspek menalar

Skor 4 Jika nalarnya benar

Skor 3 Jika nalarnya hanya sebagian yang benar

Skor 2 Mencoba bernalar walau masih salah

Skor 1 Diam tidak bernalar

4. Aspek mengolah data :

Skor 4 Jika Hasil Pengolahan data benar semua

Skor 3 Jika hasil pengolahan data sebagian besar benar

Skor 2 Jika hasil pengolahan data sebagian kecil benar

Skor 1 Jika hasil pengolahan data salah semua

5. Aspek menyimpulkan **:**

Skor 4 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 3 jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya benar

Skor 2 kesimpulan yang dibuat sebagian kecil benar

Skor 1 Jika kesimpulan yang dibuat seluruhnya salah

6. Aspek menyajikan

Skor 4 jika laporan disajikan secara baik dan dapat menjawabsemua pertanyaan dengan benar

Skor 3 Jika laporan disajikan secara baik dan hanya dapat menjawab sebagian pertanyaan

Skor 2 Jika laporan disajikan secara cukup baik dan hanya sebagian kecil pertanyaan yang dapat di jawab

Skor 1 Jika laporan disajikan secara kurang baik dan tidak dapat menjawab pertanyaan

b. Rubrik Penilaian Diskusi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Terlibat penuh				
2	Bertanya				
3	Menjawab				
4	Memberikan gagasan orisinil				
5	Kerja sama				
6	Tertib				

Kriteria

1. Aspek Terlibat penuh :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, tanggung jawab, mempunyai pemikiran/ide, berani berpendapat

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlihat aktif, dan berani berpendapat

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kadang-kadang berpendapat

Skor 1 Diam sama sekali tidak terlibat

2. Aspek bertanya :

Skor 4 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan pertanyaan

Skor 1 Diam sama sekali tdak bertanya

3. Aspek Menjawab :

Skor 4 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang jelas

Skor 3 Memberikan jawaban dari pertanyaan dalam kelompok dengan bahasa yang kurang jelas

Skor 2 Kadang-kadang memberikan jawaban dari pertanyaan kelompoknya

Skor 1 Diam tidak pernah menjawab pertanyaan

4. Aspek Memberikan gagasan orisinil :

Skor 4 Memberikan gagasan/ide yang orisinil berdasarkan pemikiran sendiri

Skor 3 Memberikan gagasan/ide yang didapat dari buku bacaan

Skor 2 Kadang-kadang memberikan gagasan/ide

Skor 1 Diam tidak pernah memberikan gagasan

5. Aspek Kerjasama :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif, tanggung jawab dalam tugas, dan membuat teman-temannya nyaman dengan keberadaannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok terlibat aktif tapi kadang-kadang membuat teman-temannya kurang nyaman dengan keberadaannya

Skor 2 Dalam diskusi kelompok kurang terlibat aktif

Skor 1 Diam tidak aktif

6. Aspek Tertib :

Skor 4 Dalam diskusi kelompok aktif, santun, sabar mendengarkan pendapat teman-temannya

Skor 3 Dalam diskusi kelompok tampak aktif,tapi kurang santun

Skor 2 Dalam diskusi kelompok suka menyela pendapat orang lain

Skor 1 Selama terjadi diskusi sibuk sendiri dengan cara berjalan kesana kemari

c. Rublik Penilaian Penggunaan Alat / bahan

Aspek	Skor			
	4	3	2	1
Cara merangkai alat				
Cara menuliskan data hasil pengamatan				
Kebersihan dan penataan alat				

Kritera :

1. Cara merangkai alat :

Skor 4 : jika seluruh peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 3 : jika sebagian besar peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 2 : jika sebagian kecil peralatan dirangkai sesuai dengan prosedur

Skor 1 : jika peralatan tidak dirangkai sesuai dengan prosedur

2. Cara menuliskan data hasil pengamatan :

Skor 4 : jika seluruh data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 3: jika sebagian besar data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 2: jika sebagian kecil data hasil pengamatan dapat dituliskan dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada data hasil pengamatan yang dapat dituliskan dengan benar

3. Kebersihan dan penataan alat :

Skor 4 : jika seluruh alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 3: jika sebagian besar alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 2 : jika sebagian kecil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

Skor 1 : jika tidak ada hasil alat dibersihkan dan ditata kembali dengan benar

d. Rubrik Presentasi

No	Aspek	Penilaian			
		4	3	2	1
1	Kejelasan Presentasi				
2	Pengetahuan				
3	Penampilan				

Kriteria

1. Kejelasan presentasi

Skor 4 Sistematika penjelasan logis dengan bahasa dan suara yang sangat jelas

Skor 3 Sistematika penjelasan logis dan bahasa sangat jelas tetapi suara kurang jelas

Skor 2 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

Skor 1 Sistematika penjelasan tidak logis meskipun menggunakan bahasa dan suara cukup jelas

2. Pengetahuan

Skor 4 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 3 Menguasai materi presentasi dan dapat menjawab pertanyaan dengan baik dan kesimpulan mendukung topik yang dibahas

Skor 2 Penguasaan materi kurang meskipun bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak berhubungan dengan topik

yang dibahas

Skor 1 Materi kurang dikuasai serta tidak bisa menjawab seluruh pertanyaan dan kesimpulan tidak mendukung topik

3. Penampilan

Skor 4 Penampilan menarik, sopan dan rapi, dengan penuh percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 3 Penampilan cukup menarik, sopan, rapih dan percaya diri menggunakan alat bantu

Skor 2 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi kurang percaya diri serta menggunakan alat bantu

Skor 1 Penampilan kurang menarik, sopan, rapi tetapi tidak percaya diri dan tidak menggunakan alat bantu

Penilaian Laporan Observasi

No	Aspek	Skor			
		4	3	2	1
1	Sistematika Laporan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, hipotesis, prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan.	Sistematika laporan mengandung tujuan, , masalah, hipotesis prosedur, hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporan mengandung tujuan, masalah, prosedur hasil pengamatan dan kesimpulan	Sistematika laporam hanya mengandung tujuan, hasil pengamatan dan kesimpulan
2	Data Pengamatan	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, grafik dan gambar yang disertai dengan bagian-bagian dari gambar yang lengka[	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan beberapa bagian-bagian dari gambar	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk table, gambar yang disertai dengan bagian yang tidak lengkap	Data pengamatan ditampilkan dalam bentuk gambar yang tidak disertai dengan bagian-bagian dari gambar
3	Analisis dan kesimpulan	Analisis dan kesimpulan tepat dan relevan dengan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan	Analisis dan kesimpulan dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan tetapi tidak relevan	Analisis dan kesimpulan tidak dikembangkan berdasarkan data-data hasil pengamatan
4	Kerapihan Laporan	Laporan ditulis sangat rapih, mudah dibaca dan disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, mudah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis rapih, susah dibaca dan tidak disertai dengan data kelompok	Laporan ditulis tidak rapih, sukar dibaca dan disertai dengan data kelompok

DAFTAR PUSTAKA

BadanPOMRI.2008.PengujianMikrobiologiPangan.*InfoPOMvol.9no.2 Maret 2008*.

Buckle, K. A., dkk. 1987. *Ilmu Pangan.*Diterjemahkan oleh Adiono dan Hari Purnomo. UI Press, Jakarta.

E. Pradhika. 2008. *Menentukan Jumlah dan Ukuran Mikroba*. http: //ekmon-saurus.blogspot.com.diakses tanggal5 Februari 2011

Fardiaz, S.,.1992. Analisis Mikrobiologi Pangan, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, IPB

Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan.* PT. Raja Grafindo Persada., Jakarta.

Ratna Siri Hadiortomo. 1985. Mikrobiologi Dasar dalam Praktek. Labolatorium Mikrobiologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. IPB. Bogor.

Setiawan,W.2005.*PenghitunganJumlahMikrobaSecaraLangsungMenggunakan Haemocytometer*. http://blog.unila.ac.id/wasetiawan.Diaksestanggal 5 November 2013

Standar Nasional Indonesia. 2006. *Air Minum dalam Kemasan*. SNI 01-3553-2006. BadanStandarisasiNasional.

Standar Nasional Indonesia. 2006. *Tahapan Uji Salmonella*. SNI SN-01-2332.2-2006. BadanStandarisasiNasional.

Sumarsih, Sri. 2003. *Diktat Kuliah Mikrobiologi Dasar*. Fakultas Pertanian UPN “Veteran”.Jogjakarta

Pelczar, Michael J, Jr. dan E.C.S. Chan. 2007. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta

Pramono, Hendro. 2007. *Catatan Kuliah Mikrobiologi Dasar.* www.unsoed.ac.id.Diakses tanggal 5 November 2013

Rachdie. 2008. Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Mikroba. http://rachdie

Sugianto, Tantri. 2012. *Uji Salmonella*. Diakses di :http://tantri-sugianto.blogspot.com/2012/07/uji-salmonella.html. Diakses pada : Minggu, 18 Oktober

Pelczar, M. J & E. C. S Chan. 1986.*Dasar-dasar Mikrobiologi*.UI-Press, Jakarta.

Widianti,NiLuhPdanNiPutuRistiati.2004.AnalisisKualitatifBakteriKoliformpada DepoAirMinumIsiUlangdiKotaSingarajaBali.*JurnalEkologiKesehatanVol.3no. 1.*

Winarno, FG. Keamanan Pangan> Institut pertanian Bogor.